

Universidade do Minho
Escola de Ciências

Alcina Eduarda Ferreira Salgado Lobo

Relatório de atividade profissional

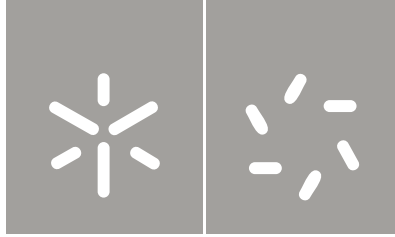
Mestrado em Ciências - Formação Contínua de Professores:
Biologia e Geologia

Relatório de atividade profissional

Alcina Eduarda Ferreira Salgado Lobo

UMinho | 2012

Dezembro de 2012



Universidade do Minho
Escola de Ciências

Alcina Eduarda Ferreira Salgado Lobo

Relatório de atividade profissional

Ao abrigo do Despacho RT-38/2011

Mestrado em Ciências - Formação Contínua de Professores
Área de Especialização em Biologia e Geologia

Dezembro de 2012

DECLARAÇÃO

Nome: Alcina Eduarda Ferreira Salgado Lobo

Correio electrónico: alcinalobo@iol.pt

Tel./Tlm.: 253 103979/965434539

Número do Bilhete de Identidade: 5923947

Título da dissertação:

Relatório de atividade profissional

Ano de conclusão: 2012

Designação do Mestrado:

Mestrado em Ciências – Formação Contínua de Professores: Biologia e Geologia

Área de Especialização: Biologia e Geologia

Escola de Ciências

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA DISSERTAÇÃO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Guimarães, 12/12/2012

Assinatura: _____

Resumo

Este relatório detalhado da minha atividade profissional é elaborado, dando cumprimento ao despacho RT-38/2011, ponto 3, de 21 de junho, para obtenção de grau de mestre em ensino de Biologia e Geologia.

Nele será feita a apresentação e discussão das experiências e competências adquiridas, consideradas por mim relevantes, ao longo de toda a minha carreira docente. Dentro dessas experiências selecionei uma, à qual darei especial relevo, apresentando uma contextualização teórica, em relação à temática abordada, seguida de atividades práticas laboratoriais, aplicadas com os alunos do 12º ano, no sentido de os familiarizar com técnicas de biotecnologia e processos biotecnológicos que são transversais às cinco unidades temáticas que compõem o programa de Biologia de 12º ano.

A seleção da biotecnologia para o desenvolvimento da componente científica deste relatório prende-se com a necessidade de atualização e aprofundamento de conhecimentos nesta área, sentidos por mim ao lecionar o programa de Biologia do 12ºano.

A formação de base e a atualização regular na área da biologia e da geologia são fundamentais no desempenho profissional. Um maior domínio do conhecimento científico, ajudará a superar as deficientes condições materiais das escolas e a escassez de informação dos livros escolares.

Abstract

This detailed report of my professional activity has been done according to “despacho RT-38/2011, ponto 3, de 21 de junho”, to obtain a Master degree in Biology and Geology teaching.

In the report I will present and discuss the experiences and competences acquired that I consider relevant during my entire teaching career. Among these I chose one I will give special attention to, showing a theoretical context on a given thematic followed by practical activities in laboratories carried out with students from the twelfth year, intended to familiarize with biotechnology's techniques and processes present in all five thematics composing the program of Biology from the twelfth year.

The selection of biotechnology to develop the scientific component in this report comes from my need to refresh and going deeper into my knowledge in this field when teaching Biology 12 th year.

Basic formation and regular update in the biology and geology fields are very important in the professional development. Better scientific knowledge will help to surpass the deficient material conditions in schools and the poor information in textbooks.

Índice

Resumo	iii
Abstract	v
Índice.....	vii
1. Introdução.....	11
1.1 Enquadramento da biotecnologia no programa curricular de biologia do 12º ano	15
1.2 Estrutura e objetivos da atividade selecionada	16
2. Biotecnologia.....	19
2.1 Eletroforese	20
2.2 PCR – Reação em cadeia da polimerase	23
2.3 <i>Fingerprinting</i> de DNA	26
2.4 Trabalho prático	29
2.4.1 Parte 1: Extração de DNA genómico	29
2.4.2 Parte 2: Eletroforese em gel de agarose	30
2.4.3 Parte 3: CSI: Fraude canina?	34
2.5 Resultados e Tópicos de discussão	36
3. Ações de formação.....	39
3.1 Formação científica e didática	40
3.2 Formação nas tecnologias da informação e comunicação	46
3.3 Formação no âmbito das ciências da educação.....	47
4. Projetos educativos.....	55
4.1 Educação para a saúde	55
4.2 Educação para o ambiente	56
4.3 Laboratório aberto	57
4.4 Roteiro geológico da cidade de Guimarães	61
Conclusões	63
Sugestões para trabalhos futuros.....	64
Bibliografia.....	65
Anexos.....	69

Anexo 1	71
Anexo 2	95
Anexo 3	96
Anexo 4	97
Anexo 5	98
Anexo 6	99
Anexo 7	100
Anexo 8	101
Anexo 9	102
Anexo 10	103
Anexo 11	104
Anexo 12	105
Anexo 13	106
Anexo 14	111

Índice de Figuras

Figura 1. Colocação do gel no tabuleiro – imagem do manual Kit Biogénus.....	31
Figura 2. Gel solidificado com o pente – imagem do manual Kit Biogénus.....	31
Figura 3. Remover o pente do gel após solidificação – imagem do manual Kit Biogénus.	32
Figura 4. Inundação do gel com a solução tampão – imagem do manual Kit Biogénus..	32
Figura 5. Aplicação das amostras – imagem do manual Kit Biogénus.	32
Figura 6. Ligação da fonte de alimentação.....	33
Figura 7. Coloração do gel – imagem do manual Kit Biogénus.	34
Figura 8. Resultado de uma eletroforese Legenda: M-mãe; P1-pai possível 1; P2-pai possível 2; F-filho.....	36
Figura 9. Fixação – imagem de http://www.prof2000.pt/users/biologia/pdefinitivas.htm	58
Figura 10. Desidratação – imagem de http://www.prof2000.pt/users/biologia/pdefinitivas.htm	58
Figura 11. Inclusão – imagem de http://www.prof2000.pt/users/biologia/pdefinitivas.htm	58
Figura 12. Colagem – imagem de http://www.prof2000.pt/users/biologia/pdefinitivas.htm	59
Figura 13. Desparaafinação – imagem de http://www.prof2000.pt/users/biologia/pdefinitivas.htm	60
Figura 14. Coloração – imagem de http://www.prof2000.pt/users/biologia/pdefinitivas.htm	60
Figura 15. Montagem – imagem de http://www.prof2000.pt/users/biologia/pdefinitivas.htm	60

Índice de Tabelas

Tabela 1 Material necessário para eletroforese em gel de agarose.....	30
Tabela 2 Parâmetros de qualidade de uma água.....	41

Introdução

A minha carreira docente teve início no ano letivo 1986/1987, como professora estagiária, estágio este integrado na Licenciatura em Ensino de Biologia e Geologia.

O que me tem motivado, durante todo este meu percurso, são princípios e valores de um ideal democrático preconizado por todos aqueles que acreditavam que “...as principais atividades de uma comunidade humana dependem quase exclusivamente do grau de autonomia e desenvolvimento intelectual dos seus filhos. Este estágio só pode ser atingido através de um processo educativo e cultural e o primeiro só é verdadeiramente significativo se atingir toda a população e em termos de mais completa igualdade de oportunidades e completo aproveitamento de aptidões.” (Simões, 1968).

É então meu objetivo, contribuir para a valorização da escola pública e para a promoção do sucesso educativo dos meus alunos fomentando, sistematicamente, a autoestima e autoconfiança, com o intuito de melhorar o aproveitamento e as relações interpessoais em ambientes exigentes e estimulantes.

A preparação das atividades letivas teóricas, práticas, laboratoriais ou de pesquisa, e as visitas de estudo, visam sempre aprofundar competências nos alunos nos domínios do “Saber” e “Saber-fazer”, tendo em conta o ensino experimental das ciências, e desenvolver uma visão integradora da ciência, estabelecendo relações entre esta e as aplicações tecnológicas, a sociedade e o ambiente.

São, fundamentalmente, estas as razões que me motivam para uma permanente atualização de conhecimentos científicos e práticas pedagógicas. E, nessa perspetiva, me candidatei ao Mestrado em Ciências – Formação Contínua de Professores que obriga ao presente relatório detalhado da minha atividade profissional.

Começarei por apresentar o meu percurso profissional nas diferentes escolas em que trabalhei e os cargos que desempenhei em simultâneo com a prática letiva.

Como professora estagiária, na Escola Secundária de Barcelinhos, lecionei a disciplina de Biologia, no 7º e 9º anos de escolaridade, tendo como turma de regência o

10º ano de escolaridade. Fui orientada pela professora Teresa Coelho a quem devo todo o apoio crítico e motivação para a prática docente. Ao assessorar o diretor de uma das turmas, fui iniciada no trabalho administrativo desse cargo.

Em 1987/1988, como professora agregada, na Escola Secundária Martins Sarmiento, em Guimarães, lecionei o 7º e 8º anos de escolaridade e, no ano letivo seguinte de 1988/1989, como professora efetiva, lecionei as disciplinas de Biologia, Ecologia e Socorrismo aos 9º, 10º e 11º anos de escolaridade na Escola Secundária da Marinha Grande. Para lecionar a disciplina de Socorrismo fiz uma ação de formação em Primeiros Socorros, orientado pela Cruz Vermelha Portuguesa, integrando um grupo dos Bombeiros Voluntários das Taipas.

Como professora do quadro de nomeação definitiva (PQND) lecionei, na Escola Secundária de Caldas de Vizela, de 1989/1990 a 2002/2003. Foram-me atribuídas, no ensino unificado, as disciplinas de Biologia, Ciências da Natureza e Noções Básicas de Saúde; no ensino secundário, as disciplinas de Socorrismo, Noções Básicas de Saúde, Ecologia, Biologia e Técnicas Laboratoriais de Biologia blocos 1, 2 e 3; no ensino complementar liceal noturno, a disciplina de Ciências Naturais e no ensino recorrente, a disciplina de Ciências do Ambiente.

Desde 2003/2004 integro o quadro de professores da Escola Secundária Francisco de Holanda. Durante este tempo lecionei, no ensino secundário, as disciplinas de Técnicas Laboratoriais Biologia blocos 1, 2 e 3, Ciências da Terra e da Vida, Biologia e Geologia, anos 1 e 2, Área de Projeto e Biologia.

Em simultâneo com a prática docente desempenhei vários cargos e coordenei projetos que contribuíram para a minha formação como professora e cidadã. O primeiro cargo que desempenhei foi de delegada de grupo de Biologia no ano letivo de 1989/1990, na Escola Secundária de Caldas de Vizela.

No ano seguinte e até ao ano letivo de 1996/1997 fui membro do Conselho Diretivo desempenhando funções de vogal e secretária. A experiência de direção de uma escola foi extremamente enriquecedora, nomeadamente em termos de relações interpessoais, permitindo a compreensão dos mecanismos administrativos, inerentes à gestão escolar, mas também da cultura de escola que vai crescendo em função das opções que se vão tomando.

Ainda nesta escola fui representante dos docentes na assembleia de escola (de 1999/2000 a 2001/2002), coordenadora do departamento curricular de Ciências Físicas e Naturais (2002/2003) e diretora de turma (2001/2002). A direção de turma permitiu-

me um contacto mais direto e aprofundado com situações problemáticas dos alunos e das famílias. Graças às estruturas existentes na Escola Secundária de Caldas de Vizela foi-me possível acompanhar e solucionar muitas dessas situações problemáticas, nomeadamente solicitando acompanhamento psicológico, acompanhamento médico e de ação social. Congratulo-me com o facto de vários alunos desta turma do 12º ano de escolaridade, de baixos recursos económicos, terem conseguido bolsas de estudo para continuarem os seus estudos no ensino superior, patrocinadas por fundações e mecenas. Desempenhei, ainda o cargo de coordenadora do Projeto Viva a Escola (1997/98) e do Programa de Educação Para a Saúde – P.E.S., (1998/99 a 2000/01 e 2002/03).

Na Escola Secundária Francisco de Holanda desempenhei, nos anos letivos de 2005/2006 e 2006/2007, os cargos de subcoordenadora dos diretores de turma e diretora de turma. Fui coordenadora do subdepartamento de Ciências Naturais no biénio 2007/2008 e 2008/2009. No exercício deste cargo procurei desenvolver um trabalho que visou sobretudo: implementar práticas de cooperação e planeamento conjunto entre docentes do mesmo grupo, com especial realce para os que lecionam a mesma disciplina/ano/nível; dinamizar as atividades planeadas e promover a sua avaliação; analisar e refletir sobre as várias vertentes da avaliação (critérios gerais e específicos de avaliação, domínios/competências a avaliar nas diferentes disciplinas do grupo disciplinar).

Exerci o cargo de professora avaliadora da atividade docente no ano letivo 2008/2009. Para o exercício deste cargo fiz formação, disponibilizada pelo Centro de Formação Francisco de Holanda, participando em duas ações de formação: “As dinâmicas organizacionais da escola e o modelo de avaliação do desempenho docente” e “Avaliação do desempenho docente e supervisão pedagógica”. Como avaliadora da componente científico-pedagógica procurei ser rigorosa na minha função e usar de “bom senso” na relação com os avaliados. Na observação das aulas, mantive uma postura destinada a obter dados e informações objetivas sobre o processo de ensino/aprendizagem.

Coordeno, a nível da escola, o projeto de Educação Ambiental - “Olimpíadas do Ambiente” (O.A.) desde 2008/2009 até ao presente ano letivo.

Sou classificadora de exames desde 2008 e integro desde 2010/2011 a bolsa de professores classificadores de exames nacionais do ensino secundário do Gabinete de Avaliação Educacional (GAVE). No desempenho deste cargo corriji os exames nacionais e frequentei as ações de formação: “Questões de fiabilidade na classificação

de respostas a itens de construção no contexto da avaliação externa das aprendizagens», em 2011 e “Avaliação – Funções e práticas”, em 2012, acreditadas pelo Conselho Científico Pedagógico da Formação Contínua, no âmbito do processo de constituição da Bolsa de Professores Classificadores dos Exames Nacionais do Ensino Secundário.

Durante este meu percurso desenvolvi, com os alunos atividades e experiências, curriculares e extracurriculares, frequentei ações de formação em diferentes âmbitos (novas tecnologias aplicadas ao ensino, práticas pedagógicas, avaliação do processo ensino/aprendizagem, atualização científica na Biologia e na Geologia, prática laboratorial) e desenvolvi projetos relacionados com a educação para a saúde, educação ambiental e visitas de estudo relacionadas com os conteúdos curriculares das disciplinas.

Neste relatório será apresentada uma atividade, desenvolvida com os alunos durante o ano letivo 2011/2012, que resultou da necessidade de atualização e aprofundamento de conhecimentos, sentida por mim ao lecionar o programa de Biologia do 12º ano.

Serão ainda apresentadas e discutidas, neste relatório, as ações de formação e os projetos educativos que, pela atualização, aprofundamento de conhecimentos e competências adquiridas, considero serem as mais relevantes na minha carreira docente.

1.1 Enquadramento da biotecnologia no programa curricular de biologia do 12º ano

O programa de Biologia do 12º ano, em vigor desde 2005/2006, tem como tema central: “A Biologia e os Desafios da Atualidade”.

Segundo o documento da Direção Geral de Inovação e de Desenvolvimento Curricular (DGIDC), 2004, a seleção das temáticas e a sua organização concetual tiveram em conta finalidades e objetivos dirigidos para a educação científica e preparação dos jovens para enfrentar com confiança as questões científico-tecnológicas que a sociedade lhes coloca, por forma a serem capazes de ponderar criticamente os argumentos em jogo, formularem juízos responsáveis e participarem nos processos de tomada de decisão.

A natureza de todas as aplicações da Engenharia Genética e as repercussões sociais e ambientais que lhe estão associadas exigem uma literacia científica relativamente à biotecnologia. Só uma literacia científica permitirá aos jovens questionar argumentos da comunidade científica, pesar as provas científicas, ponderá-las para tomar decisões informadas e equilibradas (Firmino, 2007).

Esta perspetiva de associar a ciência à tecnologia e sociedade visa exatamente conseguir uma alfabetização científica e uma educação para a cidadania, para formar indivíduos mais críticos, mais responsáveis e mais comprometidos com o mundo e seus problemas (Díaz, 2002).

A biotecnologia surge em destaque no programa da disciplina de Biologia de 12º ano estando presente nas cinco unidades temáticas que integram o programa.

A segunda unidade, Património Genético, contempla a perspetiva dos genes como “campo de intervenção biotecnológica”. Um dos conteúdos concetuais diz respeito aos fundamentos de Engenharia Genética onde se sugere, em termos metodológicos:

- Interpretação de procedimentos laboratoriais de manipulação de DNA (ácido desoxirribonucleico) e respetivos resultados;
- Avaliação das potencialidades da tecnologia do DNA recombinante para estudar a expressão de genes humanos em laboratório;
- Interpretação de documentos sobre a utilização de técnicas de PCR (reações de polimerização em cadeia), seus fundamentos biológicos e requisitos

tecnológicos; análise das suas potencialidades (por exemplo: aplicações às ciências forenses), limitações e questões éticas associadas;

- Discussão de casos com impacto social sobre a produção de organismos geneticamente modificados (OGM).

Ao nível de competências a desenvolver, o programa preconiza que devem contemplar não só o domínio concetual, isto é, o conhecimento, a compreensão e a aplicação de conceitos, factos, princípios e teorias, mas também o domínio procedimental, que geram nos alunos habilidade e destreza, como também o atitudinal, com o desenvolvimento de atitudes face aos conhecimentos e aos trabalhos científicos (rigor, curiosidade, objetividade, perseverança).

1.2 Estrutura e objetivos da atividade selecionada

Para ir de encontro aos propósitos programáticos realizei, com alunos de Biologia do 12º ano, atividades práticas laboratoriais no sentido de os familiarizar com técnicas básicas de biotecnologia, que lhes permitissem contactar com procedimentos utilizados rotineiramente em laboratórios de investigação.

Pretendi, com o desenvolvimento e aplicação desta atividade, que os alunos atingissem os seguintes objetivos:

- Compreensão de vários conceitos associados à biotecnologia.
- Adquisição de competências básicas de manuseamento de material de laboratório.
- Desenvolvimento da capacidade de reflexão e pensamento crítico, através da interpretação e discussão de resultados experimentais obtidos a partir de observações qualitativas.

A prática laboratorial foi possível devido à existência na escola de kits para aulas práticas de Biologia Molecular.

O Kit Biogénus chegou à escola em 2009, distribuído pela DGIDC e destinava-se a ser aplicado na disciplina de Biologia de 12º ano. Atendendo à especificidade deste Kit experimental e à necessidade de prestar informação e apoio aos professores foi criado, na altura, um fórum de acompanhamento na plataforma *moodle* da DGIDC, entretanto encerrado. Este projeto resultou de uma parceria entre investigadores,

professores do ensino secundário e a Ordem dos Biólogos e teve como principal objetivo fazer chegar aos professores um conjunto de materiais que lhes permitissem realizar aulas práticas no domínio da biotecnologia que fossem didáticas, motivadoras e que permitissem a participação ativa dos alunos.

Cada protocolo proposto aos alunos, foi adaptado e otimizado do manual de utilizador do Kit Biogénus (anexo 1), para serem exequíveis, nos tempos letivos, por alunos pouco experientes em trabalho laboratorial e utilizando os materiais, ainda funcionais, dos kits e os recursos materiais e equipamento existente na escola.

A preparação das atividades laboratoriais para os alunos exigiu estudo e pesquisa, para me atualizar e aprofundar conhecimentos, em várias temáticas relacionadas com a biotecnologia.

Da apresentação da atividade selecionada constará uma contextualização teórica, em relação à temática abordada: eletroforese, PCR e *fingerprinting* de DNA, seguida da apresentação de um conjunto de materiais de apoio que incluem protocolos - instruções procedimentais e proposta de tópicos de discussão - interpretação dos resultados.

Biotecnologia

A biotecnologia tem sido utilizada pelo Homem desde os primórdios da sua história em atividades como: a preparação do pão e bebidas alcoólicas (processos de fermentação), no melhoramento de culturas e animais domésticos (com base em características fenotípicas) ou ainda na compostagem (utilizada para aumentar a fertilidade do solo).

A partir da segunda metade do século XX, o conhecimento da estrutura primária das proteínas, a publicação da estrutura do DNA em 1953, por Watson e Crick, que permitiu o desenvolvimento das tecnologias do DNA recombinante em 1973, começa a era da biotecnologia moderna (Ribeiro et al., 2005).

Como se pode ler em Ferreira e Sousa (1998) “A biotecnologia é hoje considerada uma área de aplicação de conhecimento das ciências da vida. A sua tecnologia envolve a aplicação de organismos ou componentes celulares para servir a indústria química e farmacêutica, servir a tecnologia alimentar e ambiental e servir outras áreas tais como, a agricultura, a energia, a recuperação de metais, etc.”

O ritmo acelerado das descobertas no domínio da biotecnologia moderna desencadeou um aceso debate público. Se por um lado podem ajudar a encontrar soluções para alguns problemas da Humanidade, por outro surgem críticas em relação à forma como estão a ser desenvolvidas e utilizadas, por alegados problemas ambientais, éticos, políticos, económicos e sociais.

A controvérsia causada por estes temas, que envolve, para além do próprio cidadão comum, cientistas, ambientalistas, agricultores e governos é apresentada por Garcia (2006).

Segundo este autor em termos socioeconómicos e políticos, há quem argumente que os aspetos positivos são apenas uma bandeira de propaganda da indústria da biotecnologia. A biotecnologia não contribuirá para acabar com a fome no mundo, pois a falta de acesso ao alimento é sobretudo devida à pobreza, bastando melhorar a distribuição de alimentos para eliminar a fome do mundo. A generalização da cultura de transgénicos pode levar a uma maior dependência dos agricultores em relação às empresas biotecnológicas. Com o registo de patente dos OGM poderá criar-se uma situação em que as grandes empresas de biotecnologia detenham os direitos sobre todas

as colheitas. Também polêmico é o caso dos animais transgênicos e a sua utilização na alimentação humana. O receio destes produtos provocarem reações alérgicas tem provocado uma resposta negativa por parte dos consumidores, especialmente na ausência de informação relativamente a avaliações de risco e de custos/benefícios.

2.1 Eletroforese

A eletroforese é uma das técnicas básicas da biologia molecular. Esta técnica que significa literalmente “transportar através da eletricidade” permite a separação de moléculas de diferentes tamanhos. Como requisito básico, a substância a ser analisada tem de poder existir no estado ionizado daí que este método seja muito eficiente na separação de proteínas, aminoácidos, DNA e RNA (ácido ribonucleico).

Numa eletroforese o movimento das moléculas ocorre, geralmente, num meio líquido que é suportado e estabilizado por um gel. O gel serve de crivo molecular que separa as moléculas de acordo com o seu tamanho. As moléculas migram desde o polo negativo até ao polo positivo do campo elétrico, uma vez que os ácidos nucleicos têm carga negativa em pH neutro.

Num campo elétrico, definido pela diferença de potencial em Volts e pela distância entre os elétrodos em centímetros (V/cm), um dado ião migra a uma velocidade determinada pela razão carga/massa, se não tivermos em linha de conta o atrito com o suporte da eletroforese (o aumento da concentração do gel leva ao retardamento da migração electroforética) (Quintas et al., 2008).

Como as moléculas de DNA têm densidade de carga constante (a quantidade de carga por unidade de massa molecular é sempre a mesma) o parâmetro que vai condicionar a migração de DNA, numa mesma eletroforese, é o tamanho das moléculas.

Assim, a migração das moléculas no gel é inversamente proporcional ao seu tamanho. As moléculas do mesmo tamanho migram conjuntamente e formam bandas que podem ser visualizadas com auxílio de um corante.

A relação entre o logaritmo da massa molecular de um fragmento de DNA e a distância percorrida no gel é aproximadamente linear. Por esta razão é possível estimar o tamanho de fragmentos moleculares de DNA comparando a sua deslocação no gel

com a deslocação de fragmentos cujo tamanho é conhecido - designados marcadores (Videira, 2011).

A eletroforese em gel de agarose é útil para a separação de moléculas de DNA cujo tamanho varie entre cerca de 300 e 10000 pares de bases (pb). A eletroforese de DNA pode também ser feita em gel de poliacrilamida quando se pretende obter uma melhor resolução de fragmentos. Com esta técnica é possível separar fragmentos com tamanhos até cerca de 1000 pb mas apenas com um nucleótido de diferença entre si que eram obtidos pelo método de Sanger¹ de sequenciação de DNA (Nussbaum et al., 2002).

A eletroforese em campo pulsado (pulsed-field) é uma técnica que permite separar grandes moléculas de DNA, como por exemplo cromossomas inteiros, aplicando uma corrente que alterna entre dois pares de elétrodos. Nestas circunstâncias as moléculas de DNA percorrem um caminho em zigue zague entre os poros do crivo molecular que constitui o gel de agarose. Quando a corrente alterna as moléculas de DNA sofrem uma reorientação, que é tanto mais rápida quanto menor o tamanho das moléculas, o que permite, a estas, mover-se mais rápido e separar-se de moléculas maiores (Videira 2011).

Para que se possa utilizar a técnica de eletroforese em gel de agarose é necessário montar todo o material necessário:

- Primeiro preparar o gel de agarose (o mais utilizado – substância purificada a partir de agar obtido de algas marinhas) dissolvendo uma dada quantidade de agarose numa solução tampão e deixando solidificar em posição horizontal numa tina apropriada. Com uma peça específica, designada pente, colocada previamente, numa das extremidades da agarose ainda líquida, obtém-se uma fileira de poços onde posteriormente serão colocadas as amostras a analisar. Após arrefecimento e gelificação da agarose, preenche-se a tina de eletroforese com solução tampão, até o gel ficar completamente coberto e os poços inundados com a solução tampão. A solução tampão é importante por duas razões: possibilita a passagem da corrente elétrica e mantém o pH da solução estável o que faz com que as cargas elétricas das moléculas sejam também estáveis.

¹ Método de Sanger, em homenagem a Fred Sanger, que com Walter Gilbert, recebeu o prémio Nobel da Química, em 1980, por desenvolver o sequenciamento de DNA.

- As amostras, que serão carregadas nos poços, são previamente misturadas com o tampão de aplicação, que tem como função aumentar a densidade da amostra, mantendo-a no poço sem difundir, e manter o pH da amostra constante e igual ao do tampão da eletroforese. Este tampão contém também um corante que permite monitorizar visualmente a migração eletroforética.
- Quando todo o sistema está montado e as amostras aplicadas, liga-se a fonte de energia o que faz com que seja fornecida corrente a ambos os elétrodos, presentes em cada um dos lados da tina de eletroforese, criando-se um campo elétrico ao longo do gel de cerca de 4-6 V/cm. No circuito elétrico a corrente é mantida através da eletrólise que ocorre nos elétrodos mergulhados na solução tampão. Durante a eletrólise, no cátodo são produzidos iões OH^- e hidrogénio, que se liberta, enquanto no ânodo são produzidos iões H^+ e oxigénio, que se liberta. Os iões OH^- produzidos no cátodo causam a dissociação do ácido fraco (HA) do tampão, originando iões A^- que conduzem a corrente para o ânodo onde vão reagir com os iões H^+ restabelecendo o ácido fraco, e os eletrões gerados vão alimentando o circuito elétrico. Os iões existentes na amostra apenas fornecem uma pequena fração da corrente conduzida entre os elétrodos sendo a maioria fornecida pelos iões do tampão em solução. O campo elétrico deverá ser interrompido antes dos iões da amostra atingirem os elétrodos (Quintas et al., 2008).

As moléculas de DNA iniciam a sua migração, abandonando os poços localizados no lado do eletrodo negativo (cátodo), em direção ao eletrodo positivo (ânodo). O movimento visível das moléculas de corante do tampão de aplicação (que também migram em direção ao ânodo) permite controlar a migração relativa das moléculas de DNA, que nesta fase não se conseguem visualizar.

- Após a eletroforese é necessário corar o gel para podermos visualizar os resultados. Para tal inunda-se o gel com uma solução diluída de corante o qual se vai ligar aos fragmentos de DNA tornando-os visíveis em bandas. Cada banda corresponde, não a uma mas a muitas moléculas de DNA, todas do mesmo tamanho.

2.2 PCR – Reação em cadeia da polimerase

O desenvolvimento da reação em cadeia da polimerase (PCR), em meados dos anos 1980, veio possibilitar novas estratégias de análise de genes no âmbito da tecnologia de DNA recombinante iniciada nos anos de 1970. Em certo sentido a PCR pode ser considerada como uma alternativa à clonagem, pois envolve a amplificação de genes *in vitro* em oposição à clonagem *in vivo*. Com a PCR, um processo automatizado, consegue-se uma amplificação fácil, muito rápida e seletiva de fragmentos de DNA específicos (Videira, 2011). Esta técnica permite a análise de quantidades ínfimas de material genético o que possibilita um melhoramento das técnicas utilizadas no diagnóstico genético, investigação forense, etc.

A PCR explora a função natural de um grupo de enzimas denominadas polimerases. Estas enzimas, presentes em todos os seres vivos, têm como função copiar fielmente o material genético.

O processo de replicação do DNA, isto é, a duplicação do DNA com obtenção de duas moléculas de DNA idênticas à molécula de DNA original, decorre da própria estrutura do DNA em forma de dupla hélice tal como foi descrita por Watson e Crick.

A replicação do DNA apresenta como características ser: semiconservativa, bidirecional e semidescontínua. Estas características são comuns aos seres procariotas e eucariotas.

A replicação semiconservativa do DNA exige que as duas cadeias polinucleotídicas que formam a hélice do DNA se separem, de modo a expor as bases que irão orientar o emparelhamento dos nucleótidos para formação das novas cadeias complementares às cadeias molde. O DNA é sintetizado na direção 5'→3' e utiliza como molde uma cadeia de DNA preexistente. Neste processo intervêm as DNA polimerases que agregam os sucessivos nucleótidos na extremidade 3' da cadeia em crescimento. As DNA polimerases catalisam a formação das ligações fosfodiéster entre o grupo OH no C3' da desoxirribose de um nucleótido e o grupo fosfato no C5' do nucleótido recém-adicionado.

Uma reação de PCR necessita essencialmente da presença da sequência de DNA que se pretende amplificar, de um par de *primers* (oligonucleótidos iniciadores), de desoxinucleótidos A, T, G e C e de uma polimerase resistente ao calor. Os *primers* são sintetizados de modo a serem complementares às extremidades 3' de cada cadeia do segmento de DNA relevante. Assim, durante a reação de PCR, os *primers* irão flanquear

a sequência que queremos amplificar. Por isso é necessário conhecer a sequência de DNA, ou as sequências flanqueantes, para levar a cabo uma reação de PCR (Videira, 2011).

A PCR consiste numa série de ciclos, cada um dos quais, envolve reações efetuadas a temperaturas diferentes. Cada ciclo de PCR envolve:

- a desnaturação de DNA que consiste na incubação do DNA a uma temperatura de cerca de 95 °C. Esta temperatura provoca o rompimento das ligações por pontes de hidrogénio, entre as bases azotadas da dupla cadeia, separando as cadeias simples;
- emparelhamento de *primers* que flanqueiam o DNA, diminuindo gradualmente a temperatura para cerca de 55 °C (varia de acordo com a composição do *primer* e da sua complementaridade com o DNA alvo). A esta temperatura as cadeias simples de DNA poderiam, espontaneamente, voltar a juntar-se, processo que se chama renaturação. Tal não acontece porque as cadeias de DNA molde para além de estarem em concentração baixa, são normalmente muito longas o que impossibilita o reemparelhamento rápido. Pelo contrário, os *primers* estão em concentração muito alta e são muito curtos (18-22 pb), emparelhando com as regiões flanqueantes do DNA muito rapidamente (menos de um minuto);
- síntese de DNA pela DNA polimerase a uma temperatura de 72 °C. Esta enzima faz o alongamento dos *primers*, usando como molde a cadeia a que cada *primer* está emparelhado. As temperaturas elevadas que se utilizam durante o ciclo de PCR requerem o uso de enzimas termoestáveis, ou seja, que não desnaturem pela exposição a altas temperaturas. A *Taq* DNA polimerase, foi a primeira enzima termoestável usada na PCR, por se manter ativa, mesmo quando exposta repetidamente a temperaturas de 95 °C. Esta enzima foi isolada da bactéria *Thermus aquaticus*, que vive junto a fontes hidrotermais onde a temperatura ronda os 80 °C (Ribeiro, 2006).

Este ciclo de reações é repetido várias vezes no aparelho de PCR (termociclador automatizado). Sem intervenção manual, e de uma forma rápida (cada ciclo demora apenas alguns minutos) a PCR permite a obtenção de uma quantidade enorme de DNA alvo (cada n ciclos leva à produção de 2^n moléculas de DNA) partindo de uma mistura em que ele pode até estar presente em cópia única. A quantidade assim obtida é

suficiente para que ele possa ser diretamente visualizado num gel de agarose (Videira, 2011).

A utilização de PCR tem tido uma diversidade de aplicações crescente em biotecnologia tendo ocupado lugar de destaque em inúmeras áreas de investigação. Contudo, encerra alguns problemas relacionados com a própria sensibilidade da técnica. Se a PCR for contaminada com DNA estranho, este pode emparelhar com os *primers*, mesmo que só parcialmente e ser amplificado. A *Taq* DNA polimerase não tem a capacidade de correção de erros comuns às DNA polimerases (atividade exonucleotídica 3'→5' pela qual removem qualquer nucleótido que tenha sido incorporado erradamente, isto é, que não seja complementar ao correspondente nucleótido na cadeia molde). Embora possam ocorrer erros na cópia, A *Taq* DNA polimerase é a enzima de eleição em PCRs analíticos quando se pretende confirmar a presença de uma dada sequência numa amostra de DNA. Para fins de clonagem de genes e sequenciação, estão disponíveis no mercado várias DNA polimerases termorresistentes obtidas a partir de outros microrganismos termofílicos com atividade de exonuclease 3'→5' que permitem obter cópias com elevada fidelidade.

2.3 *Fingerprinting* de DNA

Fingerprinting de DNA literalmente quer dizer impressão digital do DNA. O nome deriva do facto de, à semelhança das impressões digitais, não existirem dois indivíduos com DNA igual (exceto os gémeos verdadeiros). Esta técnica desenvolvida nos anos 1980, baseia-se na aplicação de enzimas de restrição que cortam o DNA em locais onde existe uma sequência específica de nucleótidos e que correspondem a zonas de restrição para o seu corte. Isto significa que cada enzima de restrição apenas corta o DNA na sequência para a qual tem especificidade, sendo esta diferente para enzimas diferentes. Assim produzem-se fragmentos de DNA que, frequentemente, variam em tamanho de indivíduo para indivíduo e que podem ser separados por eletroforese em gel. Esta técnica é muito utilizada na investigação criminal para identificar criminosos a partir de resíduos de DNA (pele, sangue, esperma, cabelos, etc.) ou em testes de paternidade.

As enzimas de restrição, ou endonucleases de restrição, foram obtidas a partir de microrganismos, nos quais fazem parte de um sistema de defesa à invasão de DNA estranho, por exemplo de um vírus. Têm a capacidade de cortar especificamente esse DNA inativando-o, não digerindo o DNA endógeno (Videira, 2011).

Existem três grupos principais de enzimas de restrição: tipo I, tipo II e tipo III. As enzimas do tipo I e III reconhecem sequências específicas de DNA mas clivam-no em locais muito afastados dessas sequências de reconhecimento. Precisam da hidrólise de ATP (adenosina trifosfato) para obter energia para se moverem ao longo da cadeia de DNA entre o local de reconhecimento e o local de restrição. Estes dois factos tornam estes dois tipos de enzimas de restrição pouco úteis em biotecnologia. As enzimas de restrição do tipo II clivam o DNA, de forma previsível e consistente, no local de reconhecimento e não necessitam de ATP, o que as torna ideais (Ribeiro, 2006).

As enzimas de restrição do tipo II reconhecem sequências que normalmente têm entre quatro a oito nucleótidos de comprimento. Como resultado do corte obtêm-se três tipos de extremidades de DNA. Por exemplo:

- a enzima *Eco RI* reconhece a sequência 5' -GAATTC- 3' e, após corte entre o G e o A, origina extremidades de DNA coesivas (extremidades de cadeia simples complementares), com extremidades 5' protuberantes;
- a enzima *PstI* reconhece a sequência 5' -CTGCAG- 3' e, após corte entre o A e o G, origina extremidades coesivas, com extremidades 3' protuberantes;

- a enzima *PvuII* reconhece a sequência 5' -CAGCTG- 3' e corta, pelo meio da sequência, a direito nas duas cadeias de DNA, originando extremidades de DNA com as duas cadeias com o mesmo comprimento.

A sequência de DNA nuclear é quase 99,9% idêntica entre quaisquer dois seres humanos. É precisamente essa pequena diferença que é responsável pela variabilidade genética. Algumas diferenças na sequência de DNA têm pouco ou nenhum efeito no fenótipo enquanto outras diferenças são diretamente responsáveis por causar doenças. Entre estes dois extremos está a variação responsável pela variabilidade fenotípica geneticamente determinada (Nussbaum et al, 2002).

O DNA de eucariotas possui três tipos de sequências nucleotídicas: altamente repetitivas, moderadamente repetitivas e únicas. Pelo contrário o DNA procariótico, com exceção dos genes para os RNA ribossômico e RNA de transferência, só tem sequências únicas.

No caso do genoma dos mamíferos, as sequências altamente repetitivas (DNA satélite) não são transcritas e representam cerca de 3% do genoma; as sequências moderadamente repetitivas são transcritas e encontram-se quer em tandem (umas a seguir às outras) quer dispersas ao longo do genoma e representam cerca de 50% do genoma; as sequências únicas encontram-se em uma ou apenas algumas cópias e representam cerca de 25% do genoma (inclui os exões – codificantes e os intrões – não codificantes). O restante, 22% do genoma, está relacionado com sequências de regiões intergênicas como por exemplo: sequências reguladoras e origens de replicação (Videira, 2011).

Hoje em dia, a técnica *fingerprinting* de DNA utiliza marcadores genéticos, ou seja variações na sequência de DNA de um indivíduo que o distinga de outro indivíduo, ou grupo de indivíduos, ou que permita a identificação de uma característica inerente a esse indivíduo.

Essas variações na sequência de DNA (mutações), que podem ocorrer em regiões do DNA que não são codificantes nem reguladoras, não tendo manifestações fenotípicas, são muito frequentes (ocorrem na população com uma frequência superior a 1%), e são características de cada indivíduo, podendo servir como marcadores moleculares. Essas mutações são designadas como polimorfismos moleculares.

Os polimorfismos mais comuns são os de um único nucleótido, designados SNP (*single nucleotide polymorphisms*). Alguns desses polimorfismos podem ser identificados por alterarem uma sequência reconhecida por uma endonuclease de

restrição sendo designados por polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição (RFLP).

Alguns RFLPs são baseados na inserção ou deleção de uma quantidade variável de DNA em vez de na perda ou ganho de uma sequência de reconhecimento de uma endonuclease de restrição. Este DNA pode ocorrer agrupado como repetições consecutivas de algumas sequências nucleotídicas sendo, de acordo com o tamanho da unidade de repetição, classificado como DNA satélite, minissatélite ou microssatélite. As unidades de repetição podem também encontrar-se dispersas pelo genoma podendo sofrer retrotransposição e são, nesse caso, designadas como DNA repetitivo disperso (Nussbaum et al., 2006).

Os marcadores de DNA minissatélite são designados por número variável de repetições consecutivas (VNTR) e têm um comprimento variável de cerca de 1000 a 3000 pb. As alterações em microssatélites, que têm em geral menos de 1000 pb, são variações de cerca de 10-60 repetições de nucleótidos simples ou dinucleótidos. Relativamente aos retrotransposições, sequências que ocorrem repetidas mas dispersas no genoma, elas podem ser designadas por SINE (*short interspersed sequences*) ou LINE (*long interspersed sequences*) de acordo com o seu comprimento (<500 pb e 1500-5000 pb respetivamente) (Videira, 2011).

Os VNTRs são marcadores moleculares especialmente úteis em biologia forense. Recorrendo a estes marcadores genéticos, a PCR e a eletroforese, obtêm-se perfis que quando comparados com um padrão pode permitir a identificação de indivíduos. A sensibilidade e a fiabilidade são características essenciais destes métodos, uma vez que envolvem a deteção de alterações muito pequenas, ao nível de um gene, podendo afetar uma cópia do gene (heterozigotia) ou as duas cópias do gene (homozigotia) (Videira, 2011).

2.4 Trabalho prático

2.4.1 Parte 1: Extração de DNA genómico

Material necessário (enviado no kit):

- Tubo com “Células bacterianas” *Escherichia coli*
- SDS 10% (dodecil sulfato de sódio, em água) – detergente aniónico
- Tampão TE (Tris-HCl 10 mM; EDTA² 1 mM, pH8,0)
- Etanol (CH₃CH₂OH)

Protocolo experimental:

1. Suspender as células em 2,5 mL de tampão TE.
Pipetar, com uma pipeta esterilizada, cerca de 2,5 ml de tampão TE para dentro do tubo e suspender, por inversão do tubo na mão, até a suspensão ficar homogénea (não agitar vigorosamente, o que provoca formação de espuma).
2. Adicionar 300 µL de SDS, inverter o tubo, como no passo anterior, e deixar a incubar durante cerca de 20 minutos à temperatura ambiente, com agitação ocasional.
3. Adicionar 5 mL de etanol, agitar suavemente invertendo o tubo algumas vezes. Imediatamente se verá o DNA precipitado, de cor branca e aspeto viscoso.
4. Retirar o DNA precipitado no tubo, com um material esterilizado, para um microtubo novo. Deixar evaporar o etanol deixando aberto o microtubo.
5. Quando o DNA estiver seco, suspender em cerca de 250 µL de tampão TE e agitar suavemente até o DNA ficar totalmente dissolvido no tampão (a solução ficará tanto mais viscosa quando maior for a quantidade de DNA extraído).
6. Dividir o DNA recolhido no passo anterior por 4 microtubos (cerca de 50 µL em cada um). Cada grupo de alunos levará um microtubo para casa sujeitando-o a diferentes condições de armazenamento:
Grupo 1 – armazenar o DNA no congelador.
Grupo 2 – armazenar o DNA à temperatura ambiente.
Grupo 3 – ferver o DNA durante 5 minutos em banho Maria.
Grupo 4 – armazenar o DNA no frigorífico.

² EDTA ácido etilenodiamino tetra-acético é um composto orgânico que age como um quelante de catiões. O seu papel é proteger os ácidos nucleicos contra a degradação enzimática que requerem catiões como cofatores.

2.4.2 Parte 2: Eletroforese em gel de agarose

O material necessário para as diferentes etapas do procedimento apresenta-se na tabela 1.

Tabela 1 Material necessário para eletroforese em gel de agarose.

<u>Para a eletroforese</u>	<u>Para as soluções</u>	<u>Para as amostras</u>
Tina com tampa	Solução tampão TBE 10X	DNA da experiência
Tabuleiro	Agarose	anterior
Pente	Água destilada esterilizada	Tampão de aplicação
Elétrodos (fios vermelho e preto)	Corante Nile Blue	Microtubos
Fonte de alimentação	Frasco hermético	Micropipeta
	Papel de alumínio	Pontas descartáveis
	Provetas / Pipetas	
	Gobelés	
	Balança	

Protocolo experimental

A. Preparação das soluções:

1. Diluir de 1:5 o tampão TBE (Tris/Borato/EDTA) 10X fornecido no kit. Agitar para homogeneizar a solução. A solução tampão deverá ser mantida em frasco rolhado à temperatura ambiente. Se, após longos períodos sem utilização, a solução ficar contaminada com fungos ou outros microrganismos, descartar e preparar nova solução.
2. Pesar 1 g de agarose e dissolver em 100 mL de tampão TBE 0,5X num copo de precipitação.
Colocar no micro-ondas por períodos curtos (cerca de 15 segundos) e agitar.
Repetir a operação (15 segundos no micro-ondas + agitação) até a solução ficar totalmente transparente.
3. Dissolver todo o conteúdo do tubo Corante Nile Blue (40 mg) em 200 mL de água destilada esterilizada (concentração final: 0,02 g/100 mL de água). Agitar até todo o corante estar bem dissolvido.

A solução deve ser armazenada no escuro (utilizar um frasco de vidro escuro, envolver o frasco com papel de alumínio e guardar num armário com porta), porque o corante se degrada na presença de luz. A solução corante é reutilizável.

B. Preparação do gel:

1. Vedar com fita-cola os dois lados abertos do tabuleiro do gel que vem dentro da tina. Colocar o tabuleiro numa bancada plana (para que o gel não fique mais grosso de um lado e mais fino do outro).
2. Verter para o tabuleiro, devagar e sem deixar formar bolhas, (Fig. 1) cerca de 40 mL de agarose fundida e arrefecida até cerca de 45-50 °C (quando já conseguir segurar o frasco da agarose nas mãos, sem se queimar).



Figura 1. Colocação do gel no tabuleiro – imagem do manual Kit Biogénius.

Colocar imediatamente o pente a cerca de 1 cm de distância do fundo do tabuleiro e completamente paralelo ao fundo. Os dentes dos pentes devem ficar submersos no gel cerca de 3 mm. Se ao colocar o pente verificar que os dentes ficam de fora ou levemente em contacto com o gel verta mais alguns mL de gel para dentro do tabuleiro.

3. Aguardar cerca de 30 minutos, até o gel estar totalmente solidificado (Fig.2).



Figura 2. Gel solidificado com o pente – imagem do manual Kit Biogénius.

4. Remover o pente para cima, perpendicularmente, com cuidado para não destruir os poços (Fig. 3) e retirar cuidadosamente a fita-cola, mantendo o tabuleiro na horizontal.



Figura 3. Remover o pente do gel após solidificação – imagem do manual Kit Biogénius.

5. Colocar o gel com o tabuleiro dentro da tina, com os poços para o lado do eletrodo preto. Verter, cuidadosamente, tampão TBE 0,5x para dentro da tina (Fig. 4) até cobrir todo o gel de tampão e o nível deste atingir cerca de 1 mm acima do gel (todos os poços do gel deverão ficar cheios de tampão).



Figura 4. Inundação do gel com a solução tampão – imagem do manual Kit Biogénius.

C. Aplicação das amostras:

1. Retirar de cada uma das amostras de DNA, manipuladas pelos alunos, uma fração de 10 μ L para um novo microtubo.
2. Adicionar, a cada uma delas, 5 μ L de tampão de aplicação.
3. Colocar a tina com o gel no local da bancada onde a eletroforese vai decorrer.
4. Usando uma micropipeta colocar 10 μ L de amostra por poço (Fig.5). Descarte a ponta em cada aplicação.



Figura 5. Aplicação das amostras – imagem do manual Kit Biogénius.

As amostras devem ser colocadas nos poços e deve ser anotado imediatamente, num esquema no papel, qual a amostra que foi colocada em cada poço. Se tiver que aplicar 8 amostras, pode utilizar todos os poços. Se possuir apenas até 6 amostras para aplicar, deverá evitar utilizar os poços das extremidades (poços 1 e 8) por serem aqueles em que as amostras migram de forma menos homogênea. Se tiver um número menor de amostras pode deixar um poço de intervalo entre as amostras, para evitar que uma amostra vaza de um poço para o do lado e contamine as amostras dos poços adjacentes.

D. Condições de eletroforese:

1. Colocar a tampa na tina.
2. Ligar os elétrodos (preto ao polo negativo; vermelho ao polo positivo) e a fonte de alimentação (Fig. 6). Verificar se há passagem de corrente (nos elétrodos, deverão começar a libertar-se umas pequenas bolhas de gás, mais do lado dos poços que do lado oposto).



Figura 6. Ligação da fonte de alimentação.

3. Deixar a eletroforese decorrer até a frente azul escura do corante chegar a cerca de 1 cm do final do gel. Desligar a fonte de alimentação e os elétrodos.

E. Coloração do gel:

1. Retirar o gel cuidadosamente fazendo-o deslizar do tabuleiro para a tampa da tina.
2. Cobrir o gel totalmente com corante Nile Blue (Fig. 7). Deixar a corar no mínimo 60 minutos, com agitação ocasional (os melhores resultados são obtidos com coloração durante toda a noite).



Figura 7. Coloração do gel – imagem do manual Kit Biogénius.

3. Retirar o corante e vertê-lo novamente para o frasco de armazenamento do corante.
4. Observar os resultados (as bandas são melhor visualizadas colocando o gel sobre um papel branco ou, de preferência, sobre uma superfície branca iluminada por baixo).

2.4.3 Parte 3: CSI: Fraude canina?

Considere a seguinte situação:

O Sr. Alão comprou um cão a um criador de uma raça muito apreciada. Querendo um animal de grande qualidade, sem olhar a custos, pediu ao criador que lhe vendesse o melhor cão da sua exploração.

O criador vendeu-lhe um cão garantindo que o pai era um cão da sua exploração, campeão nacional em exposições.

Imensamente feliz, o Sr. Alão levou para casa um belo cachorro que em breve se desenvolveu num cão adulto nada parecido com o seu pai, sem aquele porte altivo nem características de campeão.

Admitindo a hipótese de ter sido ludibriado, o Sr. Alão voltou à exploração, recolheu amostras de pelo da mãe, do alegado pai, campeão, mas também de um outro macho adulto daquela raça que partilhava o canil, e que poderia muito bem ser ele o verdadeiro pai, pois não partilhava as características de porte e pujança do afamado cão e tinha fortes semelhanças com o animal adquirido.

Tendo assim amostras de pelo dos dois putativos pais, da mãe e do filho (o seu próprio cão), o Sr. Alão pediu a um geneticista molecular que corresse uma bateria de testes com marcadores genéticos, que permitissem identificar a paternidade do seu animal.

No laboratório, os técnicos extraíram DNA dos pelos de cada um dos animais (em extrações totalmente separadas, de modo a evitar cruzamento das amostras), e amplificaram, pela técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*/Reacção da Polimerase em Cadeia) um fragmento específico de canídeos (e bastante polimórfico) que pode originar dois alelos diferentes (heterozigotia) ou iguais (homozigotia) em cada um dos indivíduos.

Os produtos dessas amplificações estão agora nas vossas mãos para poderem analisar por eletroforese em gel de agarose (ver protocolo) a eventual paternidade dos indivíduos analisados.

Material biológico fornecido no kit:

- DNA da mãe (M)
- DNA do pai possível 1 (P1)
- DNA do pai possível 2 (P2)
- DNA do filho (F)
- Marcador (tubo transparente)

Protocolo experimental:

1. Preparar uma eletroforese em gel de agarose (ver protocolo).
2. Aplicar, nos poços do gel, uma amostra (10 µL) de cada um dos materiais biológicos fornecidos. As amostras de DNA já vêm com tampão de aplicação pelo que só é necessário aplicar as amostras no gel, a partir dos tubos indicados acima.
3. Separar os fragmentos por eletroforese.
4. Corar o gel.
5. Registrar as bandas.
6. Analisar os resultados.

2.5 Resultados e Tópicos de discussão

Ficha de Trabalho – Resultados e tópicos de discussão da atividade laboratorial.

1. Na primeira parte do trabalho prático teve a possibilidade de visualizar DNA genómico com um grau de pureza substancialmente mais elevado do que aquele que normalmente se obtém a partir de extratos de cebola, morango ou kiwi.

1.1 Comente a afirmação referindo as diferenças entre o DNA extraído nesta atividade prática e o extraído de células vegetais.

2. O DNA extraído das células bacterianas foi, posteriormente, manipulado e visualizado através de eletroforese em gel de agarose, utilizando o kit Biogénus.

2.1 Apresente, num esquema o resultados obtido da eletroforese das amostras de DNA manipuladas.

2.2 Explique porque é necessário proceder à coloração do gel de agarose.

2.3 Relacione os resultados obtidos com as condições a que as amostras foram sujeitas.

3. A figura abaixo mostra o resultado de uma eletroforese da experiência “Fraude canina?”

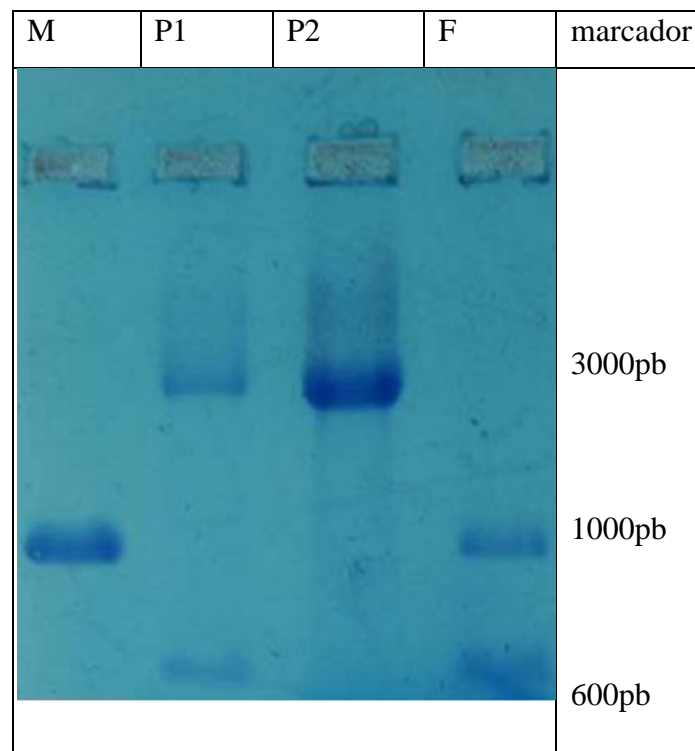


Figura 8. Resultado de uma eletroforese Legenda: M-mãe; P1-pai possível 1; P2-pai possível 2; F-filho.

- 3.1 Dos quatro intervenientes, quais são homozigóticos e quais são heterozigóticos?
- 3.2 Qual dos dois pais poderá ser excluído?
- 3.3 Podemos dizer que o outro cão é de certeza absoluta_o pai?
- 3.4 Em relação ao animal que foi excluído, podemos dizer que, de certeza absoluta,_não é ele o pai?
- 3.5 Descreva o que ocorre durante um ciclo da técnica de PCR.
- 3.6 Descreva o que ocorre durante uma eletroforese.

Nota: Para responder às perguntas 3.5 e 3.6 deve consultar “Laboratório Virtual de Biotecnologia”

http://www.casadasciencias.org/index.php?option=com_docman&task=doc_details&gid=36344278&Itemid=23

Para que os alunos procedam à realização das experiências e à interpretação dos resultados experimentais é necessário que possuam competências básicas no trabalho de laboratório e possuam conhecimentos:

- da natureza do DNA;
- da ação das enzimas de restrição;
- das técnicas subjacentes à atividade.

As questões sobre o *fingerprinting* de DNA destinam-se a contemplar a situação, comum a todos os testes de genotipagem:

- Se o filho não tem um perfil compatível com a paternidade, então podemos afirmar, com toda a certeza, que aquele possível pai não pode ser o verdadeiro pai.
- Se o filho tem um perfil compatível com a paternidade, é apenas essa afirmação que pode ser feita. Ou seja, que “este animal pode ser pai daquele cão”, não sendo possível garantir que o seja, porque qualquer outro cão com aquele perfil compatível poderia ser o verdadeiro pai. Apenas em populações confinadas no espaço (por exemplo peixes num aquário, bovinos numa vacaria, etc.), sem hipóteses de contacto com o exterior e em que tenham sido genotipados todos os machos em idade de reprodução, apenas nesse caso, se poderia afirmar que aquele pai seria o único pai possível.

Tendo a mãe dois alelos de 1000 pares de bases (homozigótica), o filho tem obrigatoriamente esse fragmento. O filho tem outro fragmento de 600 pb sendo heterozigótico para este marcador.

Como apenas um dos possíveis pais possui a banda de 600 pb, esse pai é compatível com a paternidade. O outro não pode ser o verdadeiro pai, uma vez que é homozigótico para a banda a 3000 pb, não tendo o filho nenhuma banda desse tamanho.

Concluindo, diremos que tanto a mãe como um dos pais putativos são homozigóticos para este marcador, pelo que só apresentam uma banda. O filho será heterozigótico, apresentando duas bandas: uma vinda da mãe e outra do pai. Como há certeza sobre a mãe, uma das bandas do filho será automaticamente identificada. O outro alelo (a outra banda) terá que vir do pai.

Ações de formação

A formação contínua na profissão docente é fundamental em vários domínios: científico, tecnológico, mas também na área das ciências da educação.

No domínio científico procurei estar atualizada, principalmente naqueles conteúdos que se relacionam com as temáticas que tenho lecionado como docente de Biologia e Geologia. Algumas das ações de formação que frequentei visavam essa atualização. Sempre, que me foi possível, optei pelas modalidades de formação oficina ou trabalho de projeto pela relação que aí se estabelece com o trabalho prático de laboratório que considero uma componente indispensável no ensino das ciências.

As novas tecnologias de informação e comunicação (TIC) mudaram completamente as práticas pedagógicas das duas últimas décadas e constituem sempre um desafio para os professores, que como eu, redigiram o relatório de estágio numa máquina de escrever. Tenho procurado atualizar-me nesta área no sentido de facilitar a minha atividade profissional, melhorar as minhas práticas pedagógicas e adequar os instrumentos e a prática de avaliação às novas linguagens. Foi-me atribuído Certificado de Competências Digitais (anexo 2) por reconhecimento de percurso formativo.

De seguida irei elencar as ações de formação que pela atualização, aprofundamento de conhecimentos e competências adquiridas, considero serem as mais relevantes na minha carreira docente, nos domínios: científico-didático, das TIC e das ciências da educação.

3.1 Formação científica e didática

“Curso de atualização em Biologia”, decorreu a 21 de maio de 1990 na escola secundária Alexandre Herculano – Porto. Orientado por professoras experientes da escola permitiu a discussão e atualização dos novos conteúdos programáticos (anexo 3).

“Ensino Experimental em Ciência/Biologia – Implicações para a construção do conhecimento científico” ação de formação, modalidade de projeto duração de 60 horas decorreu de 8 de Setembro a 12 de outubro de 1997, na Escola Secundária Martins Sarmiento, organizada pelo Centro de Formação Martins Sarmiento e orientada pelos professores Maria Teresa Vilaça e José Batista da Ascensão.

Esta ação foi excelente pela competência e preparação dos formadores e de grande utilidade no âmbito científico e didático, tendo respondido muito positivamente a todas as minhas expectativas.

Concretizou plenamente o objetivo que propunha desenvolver competências científicas e laboratoriais, tendo sido feita a retificação de conceitos e metodologias à luz dos novos conhecimentos científicos. O estudo do ciclo de vida de *Sacharomyces cerevisiae* contida no fermento de padeiro, reprodução assexuada e sexuada, permitiu a aplicação de diferentes técnicas laboratoriais de importância relevante: técnicas básicas de esterilização do material de laboratório (com a fundamental explicação do modo de funcionamento da autoclave), preparação de meios de cultura de crescimento, de esporulação e de germinação de esporos; técnicas de espalhamento em ambiente asséptico, entre outras.

Sensibilizou para que o ensino experimental seja essencialmente investigativo e não apenas demonstrativo.

Propôs práticas investigativas de diferentes graus de abertura consoante o nível etário, tempo disponível e a complexidade dos problemas a investigar.

Motivou para o imprevisto na atividade experimental (necessário tendo em conta as condições reais das escolas) sem prejuízo do rigor científico e pedagógico, otimizando a utilização de instrumentos já existentes nos laboratórios escolares.

Alertou para a necessidade de se proceder a uma análise prévia dos protocolos experimentais dos manuais escolares, detetando as conceções subjacentes, e adequando-os para que os alunos construam o conhecimento científico. A título exemplificativo foram analisados protocolos sobre fermentação e respiração em *S. cerevisiae*.

explorando as implicações das incorreções dos protocolos experimentais de muitos manuais escolares.

”Caracterização e Tratamento de Águas para Consumo”, ação de formação, na modalidade de projeto com a duração de 50 horas, decorreu entre 27 de setembro de 2000 e 14 de março de 2001, na Escola Secundária de Caldas de Vizela, orientada pelo professor Luis Lehmann e organizada pelo centro de formação Bráulio Caldas, a que correspondeu 4 unidades de crédito (anexo 4).

Destaco nesta ação as técnicas de recolha e de análise química de água, de diferentes origens, recorrendo a kits de análise e à correlação desses resultados com os obtidos em laboratórios acreditados.

Apresenta-se na tabela seguinte os parâmetros de qualidade de uma água que foram analisados.

Tabela 2 Parâmetros de qualidade de uma água.

Grupos de parâmetros	Parâmetros
Físicos	Organoléticos: Sabor, cheiro e cor Turvação Sólidos Condutividade Temperatura
Químicos	pH Acidez Alcalinidade Dureza Carência química de oxigénio (CQO) Carência bioquímica de oxigénio (CBO ₅) Cloretos Sulfatos, fosfatos, nitratos e nitritos Metais pesados
Biológicos	Número total de germes Coliformes totais Coliformes fecais <i>Staphylococcus aureus</i>
Radiológicos	Medição de radiações α e β

Pretendeu-se também simular um sistema de tratamento de água à dimensão laboratorial o que levou ao contacto com empresas do ramo do tratamento de águas e ao estudo da legislação em vigor.

“O Ensino das Ciências em Laboratório”, ação de formação, na modalidade de oficina, com a duração de 25 horas, decorreu entre 15 de fevereiro a 4 de maio de 2005, na Escola Secundária Francisco de Holanda, orientada pela professora Camila Sousa e organizada pelo centro de formação Francisco de Holanda, a que correspondeu 2 unidades de crédito (anexo 5).

O principal objetivo da ação era a atualização e aprofundamento de conhecimentos no domínio do trabalho laboratorial de biologia.

Propôs práticas laboratoriais diversificadas, o que motivou a utilização de muito do material de laboratório, que não era utilizado por desconhecimento do modo de funcionamento do mesmo.

Permitiu a experimentação de novas técnicas de trabalho de laboratório, vulgarmente utilizadas em biotecnologia, nomeadamente a eletroforese em gel de agarose.

Motivou uma reflexão sobre a importância do Ensino das Ciências e o papel do professor de Ciências no processo de ensino/aprendizagem.

Participação na 1ª sessão de Medicina e Cancro do 3º ciclo de colóquios “Multifatorialidade genética e ambiental do cancro familiar: implicações na prevenção e no diagnóstico precoce”, decorreu a 29 de setembro de 2006 no auditório da fundação de Serralves no Porto, promovido pelo Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto (IPATIMUP) e pela Fundação Calouste Gulbenkian. Contou com a colaboração de especialistas da Faculdade de medicina da Universidade do Porto, assim como dos centros do Instituto Português de Oncologia do Porto e Lisboa e dos Hospitais Universitários de Porto e Coimbra (anexo 6).

Esta sessão, de carácter científico-pedagógica, proporcionou-me um maior conhecimento sobre a influência da constituição genética e dos fatores ambientais na génese do cancro familiar. Sensibilizou-me para a modificação de atitudes no que diz respeito à prevenção e ao diagnóstico precoce das doenças oncológicas mais frequentes em Portugal.

Participação no programa “ Ensino experimental das ciências” da Escola de Ciências da Saúde/Instituto de investigação em ciências da vida e saúde, com estágio de formação experimental sobre microbiologia, tendo elaborado o protocolo experimental “Preparação e observação microscópica de preparações definitivas”, certificado em julho de 2009 (anexo 7) em parceria com o meu colega Marco Fonseca, que também participou no mesmo programa.

O protocolo elaborado foi aplicado, por nós, na escola, durante a semana aberta dentro das atividades do Laboratório Aberto de Biologia. A sua aplicação foi possível pela existência na escola de um micrótomo de grande qualidade e pelo uso de materiais preparados durante o estágio de formação experimental, nomeadamente os rins de rato incluídos no bloco de parafina e as preparações definitivas de rins de rato e de tumores gastrointestinais.

O trabalho laboratorial, acompanhado por técnicos, e a relação de proximidade com os investigadores e o seu trabalho, foram dois dos aspetos mais gratificantes deste estágio.

“Avanços científicos – Aplicação ao Ensino Laboratorial das Ciências”, ação de formação, modalidade oficina, com a duração de 30 horas presenciais e 30 horas de trabalho autónomo, a que corresponderam 2,4 unidades de crédito. Decorreu entre 15 de setembro e 17 de novembro de 2009, na Escola Básica e Secundária Santos Simões, organizada pelo Centro de Formação Francisco de Holanda e orientada pela professora Camila Sousa. Obtive a classificação de 9,6 valores, a que corresponde a menção qualitativa de Excelente (anexo 8).

A ação apresentou como objetivos: dominar novas técnicas de trabalho laboratorial; criar e desenvolver protocolos de trabalho experimental, que integrem as técnicas desenvolvidas na oficina de formação, de acordo com as didáticas específicas do ensino das ciências; aplicar os conhecimentos adquiridos a novos contextos e a novos problemas; desenvolver destrezas cognitivas em associação com o incremento do trabalho prático, ou seja, no domínio do saber-fazer.

Nesta ação começou por ser feita uma abordagem sumária à importância do ensino laboratorial em ciências e a metodologias, não laboratoriais, que visam uma aprendizagem significativa nomeadamente, o “estudo de caso” e a utilização de

simuladores disponíveis *online* para exploração de conteúdos como o “Laboratório Virtual”.

O grupo de trabalho, em que me integrei, planificou o estudo de caso “Alterações na pedra natural aplicada em edifícios”, no âmbito da Geologia, que pretende que os alunos: identifiquem as alterações da pedra natural dos edifícios emblemáticos do património arquitetónico da cidade de Guimarães; relacionem a degradação da rocha com fatores ambientais e antrópicos e tomem consciência da importância da preservação do património cultural.

Durante as sessões presenciais realço o trabalho laboratorial pela pertinência, adequação e aplicabilidade aos programas curriculares de Biologia do ensino secundário e às condições dos laboratórios escolares. Destaco os trabalhos:

- “Evidência da fermentação alcoólica” em diferentes meios e “Fermentação de diferentes tipos de açúcar” com identificação das variáveis a controlar e dos indicadores do processo em estudo (realização de atividades experimentais e elaboração dos respetivos relatórios);
- “Observação das características morfológicas e sexuais de duas espécies de leveduras: *Saccharomyces cerevisiae* e *Shizosaccharomyces octosporus*. ”

A realização destes trabalhos permitiu a aprendizagem de novas técnicas de trabalho laboratorial, a utilização de novos meios de cultura e a aplicação de novos procedimentos para uma mais eficaz observação de resultados. Exemplificando realço:

- a utilização dos tubos Durham invertidos e o indicador azul de bromotimol para evidenciar a fermentação, pelas leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Shizosaccharomyces octosporus*, de diferentes tipos de açúcares;
- a utilização conjugada dos corantes verde de malaquite e safranina para a observação ao microscópio ótico composto de esfregaços, das duas espécies de leveduras, desenvolvidas em meios de esporulação;
- a utilização da escala de Wickerham para avaliar o crescimento de leveduras em meios de cultura líquidos.

Com o objetivo de testar em contexto educativo, durante o 2º período no decurso do corrente ano letivo e na disciplina de Biologia e Geologia do 10º ano, foi planificado um trabalho laboratorial que permitisse aos alunos aplicar técnicas de assepsia, preparar meios de cultura para crescimento de leveduras, relacionar o crescimento de leveduras com o processo fermentativo e identificar a temperatura como fator limitante para o

crescimento das leveduras. Este trabalho que propõe diferentes atividades de laboratório abarca um vasto leque de conteúdos curriculares tendo a vantagem de os integrar pela utilização do mesmo material biológico, as leveduras *S. cerevisiae*.

A modalidade de formação (oficina) foi a mais adequada para a concretização dos objetivos a que a ação se propunha.

Curso de Formação “As rochas e as estruturas geológicas: do campo ao laboratório” que decorreu no Departamento de Geologia da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, de 9 a 24 de outubro de 2009, com a duração de 25 horas a que correspondeu 1 unidade de crédito e a classificação de 10 valores (anexo 9).

O curso foi lecionado pelas professoras doutoras Helena Sant’Ovaia, Maria dos Anjos Ribeiro e Maria Ângela Almeida.

Neste curso de formação foi dado especial ênfase ao trabalho de campo em geologia: importância métodos e aplicações. Foi salientada a importância didática no ensino da geologia do trabalho de campo que assume papel fundamental na motivação para a aprendizagem e permite fazer uma evolução progressiva do concreto para o abstrato. Para além disso o trabalho de campo permite demonstrar a multidisciplinaridade da geologia (mineralogia, petrologia, geologia estrutural, estratigrafia, cartografia, etc.) e a sua interdisciplinaridade com outras ciências, nomeadamente a biologia.

A saída de campo realizada neste curso de formação “O percurso pela Geologia e pela Pedra da Cidade do Porto” permitiu-me:

- conhecer a importância da utilização do granito colhido em pedreiras da cidade ao longo da história do Porto, função do pensamento e das condições socioeconómicas de cada época;
- estabelecer uma relação entre as características arquitetónicas e fatores ambientais com a rocha granítica;
- discutir sobre a grande diversidade de tipos de deterioração da pedra e as medidas mais adequadas a tomar com vista à preservação do património arquitetónico.

O “Trabalho de campo em contexto ígneo e metamórfico: granito de Lavadores e seu encaixante” decorreu ao longo de um percurso na Praia de Lavadores. A heterogeneidade e complexidade geológica da zona foram sendo exploradas pelas professoras que nos acompanhavam o que me permitiu:

- observar estruturas e texturas magmáticas em granitos;
- observar e interpretar estruturas primárias e secundárias em granitos;
- descrever e analisar os aspetos relativos aos encraves e interpretar o seu significado;
- analisar as relações geométricas entre granitos e rochas metamórficas encaixantes;
- observar e interpretar diferentes aspetos geomorfológicos.

A leitura e interpretação de cartas geológicas, a realização de perfis topográficos e geológicos, o estudo teórico das estruturas geológicas, a caracterização macroscópica das rochas e a caracterização de minérios, foram outras vertentes deste curso de formação. Todas as temáticas abordadas no curso foram de grande interesse e permitiram atualizar e consolidar conhecimentos de geologia que se enquadram nos currículos lecionados no ensino secundário.

3.2 Formação nas tecnologias da informação e comunicação

Ciclo de iniciação do curso de Tecnologia Educacional, duração 24 horas, promovido pelo Instituto de Comunicação Multimédia – Lisboa em maio de 1989.

Ação técnico-pedagógica “Introdução ao Excel”, duração 12 horas, decorreu de 17 a 20 novembro de 1992, promovida pelo Centro de Apoio Local de Guimarães, Projeto Minerva, Pólo da Universidade do Minho.

II Seminário Internacional “Biologia e Geologia e as Tecnologias da Informação”, duração 12 horas, decorreu nos dias 24 e 25 de setembro de 1992 na Universidade do Minho – Gualtar.

III Seminário Internacional “Biologia e Geologia e as Tecnologias da Informação”, duração 15 horas, decorreu nos dias 12, 13 e 14 de maio 1993 na Universidade do Minho – Gualtar.

Ação de formação “O processador de texto na atividade docente”, duração de 25 horas, decorreu entre 23 de abril a 24 de maio de 2002, organizada pelo centro de formação Bráulio Caldas, a que correspondeu 1 unidade de crédito.

Ação de formação “O Excel: uma ferramenta para professores”, duração 25 horas, decorreu entre 29 de abril a 27 de maio de 2004, organizada pelo centro de formação Francisco de Holanda, a que correspondeu 1 unidade de crédito.

Ação de formação, na modalidade de oficina, ”A utilização das TIC nos processos de ensino/aprendizagem (construção/produção de materiais pedagógicos)”, duração de 25 horas, decorreu entre 19 de abril e 14 de junho de 2006, organizada pelo centro de formação Francisco de Holanda, a que correspondeu 1,8 unidades de crédito.

Substituo todos os diplomas e certificados de participação nas ações de formação acima referidas pelo certificado de competências digitais (anexo 2) que me foi passado pelo reconhecimento dessas mesmas ações. Todas elas foram relevantes e imprescindíveis para a minha atualização profissional.

3.3 Formação no âmbito das ciências da educação

“Avaliação do desempenho docente e supervisão pedagógica”, ação de formação com a duração 22,5 horas, decorreu entre 4 e 8 de julho de 2008, na Escola Secundária Francisco de Holanda, orientada pela formadora Regina Parente, organizada pelo centro de formação Francisco de Holanda, a que correspondeu 0,9 unidades de crédito (anexo 10).

A ação foi proposta com o objetivo de apoiar as escolas e os professores na implementação do processo de avaliação de desempenho docente (ADD). Para a concretização deste objetivo primordial a ação foi orientada em três vertentes:

- análise reflexiva dos normativos que regulam este processo de avaliação;
- conceito de supervisão pedagógica enquadrando-a no processo de avaliação de desempenho docente;
- desenvolvimento de competências de organização prática de supervisão pedagógica com incidência na observação de aulas.

A minha pronta aceitação em participar nesta ação de formação teve a ver com a urgência de apoio e angústias acumuladas durante a implementação deste processo de avaliação. A minha expectativa é que as questões abordadas, permitam o desenvolvimento de uma atitude crítica face ao processo de avaliação de desempenho de docentes e à supervisão pedagógica.

Nesta ação de formação foram analisados e debatidos diferentes modelos de supervisão pedagógica promovendo-se uma reflexão crítica.

O modelo de supervisão clínica desenvolvido nos EUA por Goldhammer (1969) e Cogan (1973) está na base da abordagem reflexiva em supervisão. Neste modelo o supervisor é o facilitador da aprendizagem do professor ao levá-lo a tomar consciência das consequências da sua ação e ao assumir, em conjunto com o supervisor, responsabilidade pelas decisões tomadas. É de salientar que este modelo que tem sido aplicado na formação inicial de professores serve também para a formação contínua e permanente de supervisores e professores que se pretendem reflexivos; isto é, professores que examinam, questionam e avaliam criticamente a sua prática (Alarcão, 1996).

Van Manen (citado em Alarcão, 1996) refere vários níveis de reflexão: nível técnico, nível prático e nível crítico ou emancipatório. Este autor chama a atenção para a necessidade de gradação nos níveis de reflexão, considerando que só é possível refletir sobre a prática relacionando-a com os valores educativos depois de compreender a complexidade da sala de aula.

A observação de aulas foi apresentada como uma estratégia privilegiada de avaliação e esta um processo essencial à supervisão: “A avaliação deve ser um processo contínuo e sistemático de (auto)monitorização pela reflexão/experimentação sobre a prática pedagógica, no âmbito da qual a observação representa uma estratégia privilegiada de recolha e análise de informação...” (Vieira, 1993).

Foi dado especial enfoque ao ciclo de observação marcado por três momentos ou fases:

1. Pré-observação ou fase pré-ativa: deverá ser definida a estratégia de observação.
2. Observação ou fase ativa: corresponde à recolha de informação, deve ser o mais possível direta e objetiva.
3. Pós-observação ou fase pós-ativa: discussão da consequência entre intenções (pré-ativa) e a realização da ação.

Este ciclo deve garantir o carácter colaborativo/reflexivo da supervisão pedagógica, possibilitando, sempre que possível, a negociação entre o avaliador e o avaliado. Para tal o professor deve ser corresponsável pelo processo de observação, participando na definição dos objetivos, na sua operacionalização e na avaliação da eficácia dos procedimentos.

A discussão, desencadeada sobretudo sobre tarefas propostas, possibilitou o desenvolvimento de uma atitude crítica sobre a avaliação do desempenho dos docentes.

“As dinâmicas organizacionais da escola e o modelo de avaliação do desempenho docente”, ação de formação com a duração 15 horas, decorreu a 9 e 10 de setembro de 2008, na Escola Secundária Francisco de Holanda, orientada pela formadora Regina Parente e organizada pelo centro de formação Francisco de Holanda, a que correspondeu 0,6 unidades de crédito (anexo 11).

Esta ação de formação enquadra-se no programa de formação, do Ministério da Educação, com o objetivo de apoiar os atores educativos envolvidos no processo de avaliação de desempenho docente, neste caso os coordenadores de departamento e outros avaliadores. Foram abordados três temas: os projetos educativos; a liderança, práticas colaborativas e avaliação de desempenho; avaliação de escola/avaliação de desempenho dos docentes.

A minha expectativa nesta ação era que as questões abordadas, permitissem atingir um dos objetivos da ação: “Criar condições para os participantes aplicarem com eficácia o modelo de avaliação de desempenho dos docentes”.

A abordagem teórica de conceitos fundamentais como: Projeto Educativo de Escola, Projeto Curricular de Escola, Projeto Curricular de Turma, Plano Anual de Atividades, e a articulação com o modelo de ADD, permitiu a interação entre os formadores e uma reflexão crítica sobre o Projeto Educativo de cada Escola.

Pela análise de diferentes normativos o Projeto Educativo de Escola surge como o referente-mor de um modelo contextualizado de ADD. Curiosamente segundo a análise realizada, os documentos parecem não exprimir nem caracterizar verdadeiramente uma escola. Este facto, para além de outras leituras possíveis, pode denunciar o sentido de estarmos perante mais uma inovação instituída, não interiorizada nem verdadeiramente adotada pelas escolas e pelos seus atores, não correspondendo a qualquer estratégia social (Estevão et al. 1996). Significa portanto que um longo caminho terá de ser traçado e que a avaliação não deve ser vista como uma realidade

separada do plano de desenvolvimento individual do professor e do plano de desenvolvimento da escola (Day, 2001).

Os líderes emocionalmente inteligentes, descritos por Arménio Rego (Professor da Universidade de Aveiro) como sendo capazes de “usar as emoções para facilitar a razão e raciocinar inteligentemente acerca das emoções” dotados de características essenciais como a integridade e as competências técnicas e concetuais, poderão ser, dentro da Escola, o motor de mudança para uma autonomia consubstanciada. E, que mudança se pretende? Avaliar para mudar a Escola ou mudar a Escola para avaliar?

“Questões de fiabilidade na classificação de respostas a itens de construção no contexto da avaliação externa das aprendizagens», ação de formação na modalidade de oficina de formação, com a duração de 45 horas (15 horas presenciais e 30 horas não presenciais), acreditada pelo Conselho Científico Pedagógico da Formação Contínua, no âmbito do processo de constituição da Bolsa de Professores Classificadores dos Exames Nacionais do Ensino Secundário, a que correspondeu 1,2 unidades de crédito. A componente presencial desta ação decorreu nos dias 25 e 26 de março 2011 na Escola Básica e Secundária Santos Simões e a componente de trabalho autónomo decorreu nos períodos de classificação de exames. A ação foi orientada pela formadora Maria Fernanda Azevedo (anexo 12).

Foram objetivos desta ação: aumentar a qualidade da classificação das respostas a itens de construção; familiarizar os classificadores com técnicas que promovem maior fiabilidade intersubjetiva de testes (exames) e promover a convergência de procedimentos na classificação de testes.

Foi positivo o contributo da formação para a qualidade do desempenho das funções de classificadora já que nas sessões presenciais da oficina, foi possível a familiarização e a aplicação de novos critérios de correção, sendo um dos pontos fortes desta oficina. Também adquiri alguns conhecimentos teórico-práticos que me alertaram para fatores que afetam o ato de classificar e que são determinantes para a fiabilidade intersubjetiva da classificação.

Reconheço que a formação de classificadores constitui um dos processos de moderação que minimiza a interferência de alguns dos fatores que comprometem a validade e a fiabilidade da classificação. Daí a importância deste tipo de formação, importância que se amplia quando envolve a classificação de exames nacionais que constituem, em muitos casos, provas de acesso ao ensino superior. Por esta mesma

razão, parece-me que, nas situações em que são detetadas imprecisões na elaboração de questões deverá haver uma reflexão, por parte do GAVE, que implique a admissão da existência de falhas, com lugar a alteração dos critérios de correção, ou não havendo alteração de opinião, por parte do GAVE, deverá haver a emissão de esclarecimento cabal e público sobre o assunto.

“Avaliação – Funções e práticas”, ação de formação acreditada pelo Conselho Científico Pedagógico da Formação Contínua, no âmbito do processo de constituição da Bolsa de Professores Classificadores dos Exames Nacionais do Ensino Secundário. A ação decorreu de maio a setembro de 2012, num total de 45 horas (15 horas de formação à distância e 30 horas de trabalho autónomo). A componente à distância decorreu de 14 a 24 de maio, na plataforma *moodle* da Universidade do Porto e a componente de trabalho autónomo decorreu nos períodos de classificação de exames. A ação foi orientada pela formadora Maria Fernanda Azevedo. Aguardo o certificado da ação a emitir pelo GAVE.

A opção da formação à distância, consequência do tempo tecnológico, favoreceu a partilha de experiências e promoveu a discussão dos diferentes pontos de vista entre os formandos envolvidos nas discussões *online*. Talvez porque seja mais de outro tempo, continue a preferir a formação presencial, em que a análise dos critérios específicos e a concertação de divergências era feita quando recebíamos os exames para corrigir e durante o processo de correção.

Constituiu objeto desta ação de formação contribuir para aumentar o rigor e a fiabilidade da classificação das provas e promover uma reflexão sobre práticas avaliativas em sala de aula de modo a contribuir para uma melhoria do desempenho dos alunos sujeitos a uma avaliação externa. Em resultado dessa reflexão foi produzida uma apreciação crítica, no final da ação, suportada pela bibliografia e pela experiência pessoal que contemplou os seguintes pontos:

1. Potencialidades/constrangimentos da co e da autoavaliação.

A regulação das aprendizagens deverá ser feita usando múltiplos processos entre os quais a coavaliação e a autoavaliação. Existe toda a vantagem da autoavaliação ser trabalhada em conjugação com a coavaliação (Black et al., 2002 citado em Santos, 2008).

A autoavaliação é entendida como um processo interno ao sujeito que lhe permite regular os seus próprios pensamentos e aprendizagens. Na organização

da autoavaliação existem duas fases importantes, uma de apropriação de critérios e outra de organização do funcionamento da autoavaliação (Nunziati, 1990, citado em Santos, 2008).

Segundo Santos (2002) o professor tem um papel fulcral na organização do processo da autoavaliação, designa-a mesmo por “autoavaliação regulada”. Ao professor cabe a responsabilidade de construir contextos facilitadores para o desenvolvimento da autoavaliação que comportam, entre outros, a abordagem positiva do erro, o questionamento e a explicitação/negociação dos critérios de avaliação.

De acordo com a mesma autora a coavaliação surge entre pares e é um processo simultaneamente externo e interno ao sujeito, na medida em que implicando outros, envolve igualmente o próprio. Usa a interação social como recurso fundamental na construção do conhecimento. A grande vantagem, ao colocar o aluno “em situações de confronto” é fazer o aluno reestruturar os seus próprios conhecimentos, regular as suas aprendizagens, e desenvolver a responsabilidade e a autonomia.

A vigente cultura escolar assente em práticas de avaliação sumativa torna irrealista, aquilo que os professores gostariam de fazer, praticar uma avaliação mais formativa. A sobrecarga de trabalho que a aplicação da co e autoavaliação acarreta, porque aumentam os momentos de avaliação, é incompatível com o cumprimento de programas curriculares extensos, nomeadamente na disciplina de Biologia e Geologia.

2. Cuidados a ter no questionamento oral.

Como se pode ler em Santos (2008): “Como afirma Stenmark, (1989) colocar a pergunta certa é uma arte a ser cultivada por todos os educadores. Da mesma opinião é Gipps (1999) ao afirmar que colocar questões no contexto da sala de aula poderá não ser tão simples quanto pode parecer.

O questionamento oral deve contribuir para o desenvolvimento das aprendizagens com o objetivo de fomentar a motivação e a autoestima pessoal e académica dos alunos.

É importante adequar o estilo e o grau de dificuldade da questão ao que definimos como espectável ser atingido pelos alunos, devendo a dificuldade das questões ir aumentando gradualmente.

O uso desta técnica permite conhecer as competências que o aluno já é capaz de mobilizar, enquanto ponto de partida para o seu desenvolvimento e detetar os conceitos que precisam de ser trabalhados. Concretizando, o questionamento oral pode ser usado, por sistema, no início das aulas com várias finalidades: fazer a revisão dos conteúdos estudados e/ou fazer a aferição dos conhecimentos dos alunos, facilitando a colocação de dúvidas pelos mesmos.

Para além do papel na avaliação formativa dos alunos, esta técnica é ainda importante na medida em que fornece ao professor feedback sobre o processo de ensino e aprendizagem, permitindo-lhe desenvolver os ajustes que considere necessários. Permite uma avaliação interativa que produz efeitos imediatos. Um dos problemas da realização do questionamento oral é que pode não haver tempo para questionar todos os alunos, situação que é ultrapassável dirigindo as questões rotativamente e utilizando a técnica com regularidade. Outra dificuldade prende-se com o tempo de espera que o professor dá ao aluno para iniciar a sua resposta. Dada a diversidade de alunos, é fundamental incentivar o aluno a responder e, se necessário for, reformular as questões ou adicionar informação que o aluno possa utilizar na construção das suas respostas.

3. Possíveis constrangimentos/efeitos da atribuição do feedback.

Foi apresentada uma atividade desenvolvida com os alunos de Biologia de 12º onde se tentou analisar os efeitos da atribuição do feedback. Foram elaborados um conjunto de materiais de apoio onde se definiam: as regras da tarefa, os critérios de avaliação propostos, as grelhas de avaliação e o feedback dado aos alunos. O trabalho de grupo selecionado, para exemplificar a atribuição do feedback, pode ser visualizado em: www.wechoosebiology.blogspot.com.

Concluo referindo que a formação contínua dos professores em geral e a formação dos classificadores relativamente ao processo de classificação de provas é fundamental.

Projetos educativos

Os projetos educativos, curriculares e extracurriculares, que serão elencados neste relatório destacam-se, na minha carreira docente, pela completude, finalidades atingidas com a sua aplicação e pelo número de parceiros envolvidos.

4.1 Educação para a saúde

O Projeto Viva a Escola (1997/1998) e o Programa de Educação Para a Saúde (P.E.S.), (1998/1999 a 2000/2001 e 2002/2003), constituíram o projeto mais abrangente em que me envolvi, quer pelos meios disponibilizados quer pelas parcerias estabelecidas.

A educação sexual e a prevenção das toxicodependências, foram as duas grandes áreas de intervenção deste projeto. Esta experiência foi altamente gratificante em termos pessoais, pelo meu interesse nas temáticas, e pela contribuição na consecução do projeto educativo da Escola Secundária de Caldas de Vizela que sempre privilegiou a formação académica a par da formação psicossocial visando a conquista da autêntica cidadania.

Coordenei todas as atividades do P.E.S. tendo-me envolvido particularmente em ações de prevenção do HIV/SIDA em meio escolar, prevenção de toxicodependências e educação sexual, concretizadas de várias formas:

- Ação de formação “As novas drogas, seus efeitos e respetiva prevenção” orientada pelo enfermeiro Miguel Viana, dirigida ao pessoal docente e discente.
- Trabalhos de projeto na Área Escola.
- Diagnóstico dos hábitos de tabagismo e de alcoolismo dos adolescentes, pela implementação de inquéritos (elaborados e tratados em parceria com a psicóloga da escola Estela Silva).
- Ação de formação “Sexualidade e Adolescência” orientada em parceria com a psicóloga Estela Silva e dirigida aos alunos do 8º ano de escolaridade.

- Dinamização do Gabinete Médico de Atendimento a Adolescentes sob a supervisão da médica Paula Campelos, do Centro de Saúde de Vizela, que prestava semanalmente consulta individual a adolescentes e apoiava diferentes turmas em trabalhos de projeto da Área Escola, relacionados com a saúde.

Fazia parte das minhas competências representar a escola em todos os “Encontro interescolas de partilha/avaliação dos projetos das escolas promotoras de saúde”, realizados periodicamente no centro de área educativa de Braga.

Participei nas ações de formação contínua “Seminário interescolas dos projetos Viva a Escola”, representando a minha escola, com a duração 25 horas em 1998 e de 35 horas em 1997.

4.2 Educação para o ambiente

Projeto “Olimpíadas do Ambiente” (O.A.) é coordenado por mim, na Escola Secundária Francisco de Holanda desde o ano letivo 2008/2009 até ao presente. O relatório da implementação deste projeto no ano letivo 2010/11 encontra-se no anexo 13.

As O.A. são um concurso coordenado a nível nacional por uma equipa multidisciplinar que integra membros da Escola Superior de Biotecnologia, da Universidade Católica Portuguesa, da Quercus - Associação Nacional de Conservação da Natureza e do Zoomarine Mundo Aquático SA.

A implementação deste projeto, a maior iniciativa de Educação Ambiental em Portugal, tem tido como objetivos:

- Incentivar o interesse pela temática ambiental.
- Aprofundar o conhecimento sobre a situação ambiental portuguesa e mundial.
- Estimular a capacidade oral e escrita.
- Promover o contacto com situações experimentais concretas.
- Desenvolver o espírito e curiosidade científica.
- Estimular a dinâmica de grupo e espírito de equipa, assim como a cooperação.

Este concurso destina-se aos alunos das turmas de Ciências e Tecnologias do 10º, 11º e 12º anos, que concorrem na modalidade “Ambiente à Prova”, categoria sénior. Todos os anos o número de alunos participantes ronda os 150.

Nos anos letivos 2009/2010 e 2010/2011, a aluna Ana Jacinta Abreu foi selecionada para a final nacional, que decorreu na ilha do Faial e em Faro, respetivamente.

4.3 Laboratório aberto

Dinamização do “Laboratório Aberto”, atividade organizada, na Escola Secundária Francisco de Holanda, até ao ano letivo 2008/2009, durante a semana aberta, pelos professores do grupo disciplinar de Biologia e Geologia. A não dinamização desta atividade na escola nos anos seguintes teve como motivo as obras de recuperação a que a escola esteve sujeita.

Esta atividade sempre contou com uma forte adesão das escolas do 1º ciclo da cidade de Guimarães que visitavam os laboratórios e outras atividades que decorriam na escola durante o mesmo período.

Também, durante a semana aberta, os alunos de 12º ano apresentavam os seus trabalhos de área de projeto, alguns deles no laboratório. Saliento a apresentação do trabalho “Génese”, no ano letivo 2008/2009, por um grupo de minhas alunas da disciplina de Área de Projeto, que efetuaram uma atividade experimental designada “Quem é o pai?” para os colegas da turma e a atividade “Extração de DNA do Kiwi” para os alunos do 1º ciclo.

Nesse mesmo ano letivo de 2008/2009 o protocolo experimental elaborado durante o estágio de formação experimental sobre microbiologia na Escola de Ciências da Saúde, foi apresentado à comunidade educativa e a todos os estudantes do ensino básico que visitaram o laboratório aberto.

A realização do protocolo experimental foi possível pela existência na escola de um micrótoomo de grande qualidade e pelo uso de materiais preparados durante o estágio de formação experimental, nomeadamente os rins de rato incluídos no bloco de parafina e as preparações definitivas de rins de rato e tumores gastrointestinais.

Aos alunos foi mostrado, em cartazes, os passos procedimentais que eles não podiam executar no laboratório da escola ficando a atividade prática restrita ao corte fino com o micrótoomo, à colagem e à observação das preparações definitivas.

Os passos de elaboração de preparações definitivas foram apresentados em cartazes que exibiam os seguintes textos e figuras:

- Fixação: paragem rápida de toda a atividade vital, por agentes químicos (Fig. 9) ou por agentes físicos (congelação); um agente químico muito utilizado é o formol (inibe micro-organismos, inibe enzimas, impede a autólise dos tecidos).

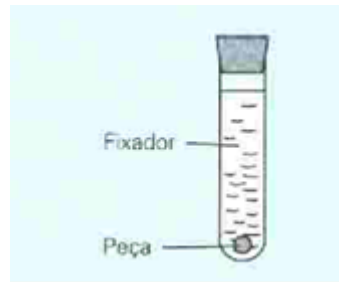


Figura 9. Fixação – imagem de <http://www.prof2000.pt/users/biologia/pdefinitivas.htm>

- Desidratação: eliminação da água dos tecidos (Fig.10); utiliza-se um processador de tecidos, que consiste num circuito de 12 a 14 horas constituído por 12 copos (formol, soluções de álcool com concentrações crescentes, xilol, parafina fundida).

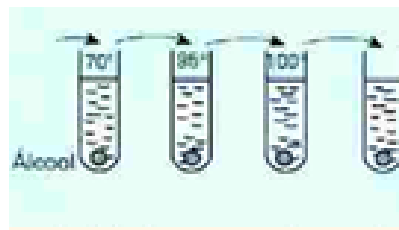


Figura 10. Desidratação – imagem de <http://www.prof2000.pt/users/biologia/pdefinitivas.htm>

- Inclusão: o material biológico é mergulhado num molde de parafina líquida, ficando incluído nele após solidificação da parafina (Fig.11).

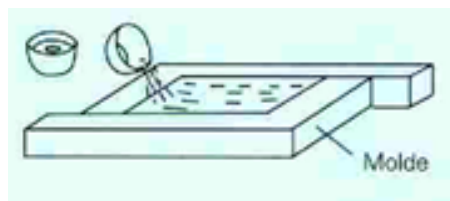


Figura 11. Inclusão – imagem de <http://www.prof2000.pt/users/biologia/pdefinitivas.htm>

A prática realizada no laboratório seguiu o seguinte protocolo:

Material necessário:

- micrótomo,

- placa de aquecimento,
- lâminas,
- rins de rato incluídos em bloco de parafina,
- pincel,
- tinas,
- água,
- álcool a 70 %.

Procedimento:

1. Coloca o bloco de parafina com rins de rato no micrótomos (ângulo da lâmina em relação ao bloco: 4 graus).
2. Procede ao corte de películas de cerca de 4 micrómetros.
3. Assim que obtiveres um corte em bom estado, passa-o para um recipiente com água fria e com álcool a 70 %. Distende-o com a ajuda do pincel, para evitar a formação de pregas.
4. Recolhe o corte com uma lâmina e coloca-o num recipiente com água quente (cerca de 54°C).
5. Retira-o da água quente, (Fig.12) usando uma lâmina a 45°. Deixa secar numa estufa a 60°C durante uma hora.

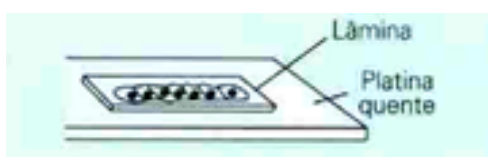


Figura 12. Colagem – imagem de <http://www.prof2000.pt/users/biologia/pdefinitivas.htm>

Os passos seguintes da montagem de preparações definitivas voltam a ser mostrados em cartazes que incluem:

- Desparafinação: a eliminação de parafina é feita mergulhando a peça em xilol e em soluções de álcool com concentrações decrescentes (Fig.13).

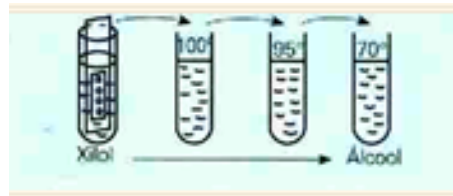


Figura 13. Desparafinação – imagem de <http://www.prof2000.pt/users/biologia/pdefinitivas.htm>

- Coloração: como todo o material biológico possui o mesmo índice de refração da luz, a lâmina tem de ser corada, para diferenciação dos constituintes celulares (Fig. 14); os corantes mais comuns são hematoxilina para o núcleo e a eosina para o citoplasma.

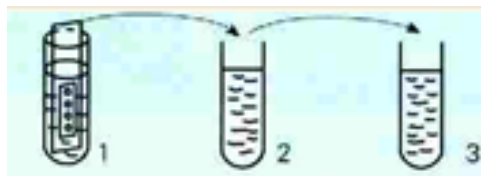


Figura 14. Coloração – imagem de <http://www.prof2000.pt/users/biologia/pdefinitivas.htm>

- Desidratação: remoção da água dos tecidos. Utiliza-se a técnica de banho numa série de álcoois de graduação crescente.
- Montagem: a lâmina é coberta com uma lamela, que adere com base na utilização de uma cola (Fig. 15). Deixar repousar cerca de 24h.

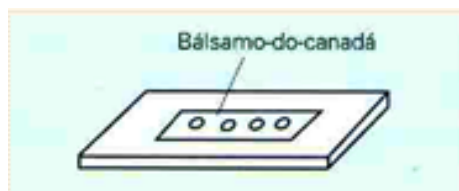


Figura 15. Montagem – imagem de <http://www.prof2000.pt/users/biologia/pdefinitivas.htm>

Finalmente os alunos tinham à sua disposição preparações definitivas de rins de ratos e de tumores gastro intestinais que podiam ser observadas com microscópios óticos montados nas bancadas.

4.4 Roteiro geológico da cidade de Guimarães

Dinamizei, em trabalho colaborativo com as colegas Cecília Dias e Lina Fonseca, o estudo de caso “Roteiro Geológico da Cidade de Guimarães”. Esta atividade foi dirigida às 6 turmas de Biologia e Geologia do 11º ano e decorreu durante os 1º e 2º períodos do ano letivo 2010/2011. O estudo de caso foi apresentado aos alunos com uma visita guiada pelas professoras da disciplina, num percurso pré-definido, com o objetivo de fazer o reconhecimento das rochas existentes na construção da cidade.

Esta atividade foi planeada em consequência da ação de formação “Avanços Científicos – Aplicação ao Ensino Laboratorial das Ciências”, onde foi apresentada a metodologia do estudo de caso, e em consequência do curso de formação “As rochas e as estruturas geológicas: do campo ao laboratório” onde tive a oportunidade de participar num roteiro geológico pela cidade do Porto.

Pretendia-se que os alunos, com este estudo fossem capazes de responder à situação problema: Qual a influência dos poluentes atmosféricos na meteorização da pedra natural aplicada nos edifícios? Dada a complexidade do estudo definiram-se os seguintes objetivos específicos:

- Observar os edifícios construídos em pedra natural, representativos do património da cidade de Guimarães;
- Conhecer as rochas ornamentais utilizadas na cidade de Guimarães;
- Classificar as rochas encontradas de acordo com a sua génese;
- Fazer a contextualização histórica da construção dos edifícios no sentido de se compreender há quanto tempo as pedras utilizadas estão expostas às agressões antrópicas e naturais;
- Identificar os fatores antrópicos /ambientais de alteração das rochas;
- Caracterizar macroscopicamente o tipo de meteorização encontrada: placas, filmes, crostas negras, fissuração, colonização biológica, etc;
- Usar múltiplas fontes de evidência bibliográfica e webliográfica.

Os alunos deveriam elaborar, em grupo, um roteiro em formato digital sobre a aplicação das rochas na construção dos edifícios e pavimentos. No roteiro, para cada paragem, deveria constar: a localização, a descrição geológica do edifício/ local no que se refere à textura e mineralogia das rochas utilizadas e a caracterização do tipo de alteração das rochas.

Este estudo de caso revelou-se de grande interesse pela adoção de metodologias ativas e inovadoras que implicam o aluno na participação, construção e avaliação das suas aprendizagens. O trabalho proposto aos alunos revelou-se exigente pela pesquisa e estimulante, pela utilização de novas tecnologias de informação e comunicação, na elaboração e apresentação pública do produto final.

O relatório da atividade apresenta-se no anexo 14.

Conclusões

Durante todo o meu percurso profissional pretendi sempre contribuir para a valorização da escola pública e para a promoção do sucesso educativo dos meus alunos. Tenho-me confrontado, ao longo da minha carreira docente, com diferentes desafios entre os quais constrangimentos que se colocam no ensino de algumas temáticas.

No ensino de temáticas relacionadas com a biotecnologia deparei-me com vários constrangimentos entre os quais:

- Falta de ações de formação nesta área;
- Informação pouco aprofundada e fundamentada nos manuais escolares;
- Inexistência de condições materiais nas escolas;
- Limitação de tempo para realizar atividades laboratoriais.

Estes constrangimentos foram sendo superados com uma contínua atualização no domínio do conhecimento científico.

O apetrechamento dos laboratórios escolares e a disponibilidade de verbas para a aquisição de materiais é, também, fundamental para o ensino e prática de técnicas da biotecnologia.

Com a atividade laboratorial desenvolvida para os meus alunos e apresentada neste relatório, pretendi atingir os seguintes objetivos:

- Realizar atividades laboratoriais de manipulação de DNA com vista à compreensão global de processos biotecnológicos envolvidos;
- Salientar a importância do DNA enquanto fator de identificação genética do indivíduo;
- Avaliar a importância biológica das enzimas de restrição no contexto da Engenharia Genética.

O trabalho de pesquisa efetuado para a realização das atividades permitiu-me entrar num mundo novo da genética molecular, aonde ficaram ainda muitas coisas por descobrir.

Concluo que a formação de professores, que se pretende contínua, de qualidade e de cariz essencialmente prático, é fundamental. Defendo que esta se realize nas escolas de ensino superior mantendo-se uma relação de proximidade e um intercâmbio de conhecimento e de práticas com a comunidade científica.

Sugestões para trabalhos futuros

A entrada no admirável mundo novo da biologia molecular e da biotecnologia abriu muitas portas e são inúmeros os assuntos que poderei continuar a estudar.

Por outro lado e atendendo a que os manuais escolares surgem como uma fonte de informação prioritária e credível no ensino de temas de biotecnologia, será também interessante, em trabalhos futuros, correlacionar a informação contida nos manuais escolares com a literacia dos alunos nesta área do conhecimento.

Bibliografia

Alarcão, I. (1996). *Formação reflexiva de professores: estratégias de supervisão*, Porto Editora, Porto.

Day, C. (2001). *Desenvolvimento Profissional de Professores. Os Desafios da Aprendizagem Permanente*, Porto Editora, Porto.

Ferreira, W. & Sousa, J. (1998). *Microbiologia – Volume 1*, 1ª edição, Lidel – Edições Técnicas Lda, Lisboa.

Fonseca, M. & Teixeira J. (2007). *Reactores Biológicos - Fundamentos e Aplicações* 1ª edição, Lidel – Edições Técnicas Lda, Lisboa.

Garcia, R. (2006). *Sobre a Terra – Um guia para quem lê e escreve sobre ambiente*, 2ª edição, Edições Público.

Hadji, C. (1994). *A avaliação, Regras do Jogo: das intenções aos instrumentos*, Porto Editora, Porto.

Nussbaum, R., McInnes, R. & Willard, H. (2002). *Thompson & Thompson – Genética Médica*, 6ª edição, Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.

Quintas, A., Freire, A. & Halpern, M. (2008). *Bioquímica – Organização molecular da vida*, 1ª edição, Lidel – Edições Técnicas, Lda. Lisboa.

Ribeiro, E., Silva, J. & Oliveira, O. (2005). *Biodesafios – Ensino Secundário 12º ano*, 1ª edição, Edições ASA, Porto.

Simões, S. (1968). *Engrenagens do Ensino*, Coleção Nova Realidade, edição do autor, Porto.

Videira, A. (2011). *Engenharia Genética – Princípios e Aplicações*, 2ª edição, Lidel – Edições Técnicas Lda., Lisboa.

Vieira, F. (1993). *Supervisão: Uma Prática Reflexiva de Formação de Professores*, Edições Asa, Rio Tinto.

Enseñanza de las ciencias ¿Para qué?: Díaz, María Jesús Martín (2002).
Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias 1, 57-63.

Práticas de Construção da Autonomia da Escola: Um ambiente de projectos Educativos; Planos de Actividades e Regulamentos Internos. Estêvão, C. V., Afonso, A. J. & Castro, R. V. (1996). *Revista Portuguesa de Educação* 9 (1), 23-57.

Direção Geral de Inovação e Desenvolvimento Curricular. (2004) Programa de Biologia 12º ano. Curso Científico-Humanístico de Ciências e Tecnologias. Lisboa: Ministério da Educação,
<http://www.dgidc.min-edu.pt/ensinosecundario/index.php?s=directorio&pid=2>
(consultado em 05/09/2011)

Firmino, Maria Nazaré Peres, Dissertação de mestrado em Biologia para o ensino: Biotecnologia – Estudo exploratório das percepções e atitudes de professores e alunos,
WWW.fc.up.pt/fcup/contactos/teses/t_050370101.pdf (consultado em 10/10/2012)

Santos, L. Dilemas e desafios da avaliação reguladora,
<http://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/5286/1/Santos%20%282008%29.pdf>
(consultado em setembro 2012)

Santos, L. Auto-avaliação regulada: porquê, o quê e como?
[http://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/4884/1/Santos%20\(2002\).pdf](http://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/4884/1/Santos%20(2002).pdf) (consultado em setembro de 2012)

Oliveira, R., Biologia Molecular – protocolos das aulas experimentais,
<http://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/7492/1/Protocolos%20das%20aulas%20experimentais%20de%20BMolecular.pdf> (consultado em 20/10/2012)

Ribeiro, Nuno, “Laboratório Virtual de Biotecnologia”
http://www.casadasciencias.org/index.php?option=com_docman&task=doc_details&gid=36344278&Itemid=23 (consultado em 25/11/2012)

Silva, José, “PCR Marcadores moleculares”
www.unioeste.br/cursos/cascavel/posmicrobiologia/aulas/Aula_04_PCR_e_Marcadores_Moleculares_Farmacologia.pdf (consultado em 25/11/2012)

“Preparações definitivas” <http://www.prof2000.pt/users/biologia/pdefinitivas.htm>
(consultado em novembro de 2012)

Anexos

Documentos digitalizados dos originais.

Anexo 1

Biogénius

(kit para aulas práticas de Biologia Molecular no Ensino Secundário)

Manual do utilizador1



Contacto: jose.matos@ordembilogos.pt

ÍNDICE

Índice	1
Introdução	2
Modo de utilização do manual	3
Conteúdos do kit	4
Experiência 1	5
Parte 1 - Extracção de DNA genómico	5
Introdução	5
Material necessário	5
Material Opcional	5
Protocolo experimental	6
Proposta de Experiência	8
Experiência 2 (Conformação de Plasmídeos)	10
Introdução	10
Material necessário	11
Protocolo experimental	11
Resultados Esperados	11
Experiência 3 (CSI: Fraude canina?)	13
Introdução	13
Material Biológico	14
Protocolo Experimental	14
Resultados	14
Perguntas	15
Electroforese em gel de agarose	16
Material Necessário	16
Preparação da Electroforese	16
a) Preparação das Soluções	16
b) Preparação do Gel	18
c) Aplicação das Amostras	19
d) Condições de Electroforese	20
e) Coloração do Gel	21
Figuras	22
Créditos e Contactos	32

Introdução

O kit Biogénius é o resultado de uma colaboração longa e frutuosa entre professores de Biologia do ensino secundário e investigadores da área da biologia molecular de diversas instituições, no âmbito de uma parceria com a Ordem dos Biólogos.

O principal objectivo foi o de fazer chegar aos professores um conjunto de materiais que lhes permitam realizar aulas práticas direccionadas para o programa de Biologia do 12º ano, nomeadamente no capítulo da Biotecnologia, que sejam didácticas, motivadoras e que permitam a participação activa de todos os alunos.

A principal preocupação foi a de fazer chegar esse material a todas as escolas do país, permitindo que um docente possa realizar estas experiências independentemente de existirem ou não infraestruturas laboratoriais disponíveis (laboratórios, bancadas, equipamento, material descartável, etc.). Na realidade, para a realização de todas as experiências deste kit, um professor necessita apenas de água destilada e de um forno microondas ou pequeno fogão para banho-maria.

Adicionalmente, foi um objectivo deste projecto conceber um kit que proporcionasse à escola uma base de equipamento simples, eficaz e pouco dispendioso que possa ser utilizado ano após ano, num sistema aberto que possa ser utilizado com recargas disponíveis de reagentes ou material biológico preparado pelos professores.

O presente manual disponibiliza toda a informação para a realização das experiências. Para qualquer informação adicional desejada são disponibilizados contactos que podem funcionar como uma "help desk" para os docentes e formadores.

Este material foi testado em Escolas Secundárias de todo o país nos últimos dois anos por professores e alunos de Vinhais a Almodôvar, de Bragança a Faro. A todos os envolvidos, os nossos agradecimentos. Aos novos utilizadores, os nossos votos de sucesso.

José Matos
(coordenador do Projecto)

Modo de utilização do Manual

O presente kit inclui 3 experiências diferentes:

Experiência 1:

Parte 1 - Extracção de DNA genómico

Parte 2 - Proposta de Experiência: "O DNA parte-se?"

Experiência 2:

Conformação de plasmídeos

Experiência 3:

CSI: Fraude canina?

Para cada experiência são fornecidos protocolos detalhados que podem ser fornecidos directamente aos alunos ou adaptados pelo professor ao calendário de aulas particular.

Todas as experiências incluem um passo de electroforese em gel de agarose. A preparação do gel de agarose, soluções tampão, marcadores, coloração do gel, etc. são passos comuns a todas as experiências, pelo que é apresentada em separado.

Nas figuras são apresentadas diversas fotos ilustrativas dos vários processos, que podem auxiliar a compreensão das experiências.

São ainda fornecidas propostas de questionários para os alunos que, igualmente, poderão ser utilizadas como tal ou adaptadas às necessidades particulares.

CONTEÚDOS DO KIT:

- 1 Tubo com etanol (~20 mL)
- 1 Tubo com agarose (~4 g, suficiente para 400 ml, cerca de 16 géis de electroforese)
- 1 Tubo tampão TBE 10X (~40 mL, suficiente para 400 mL de solução 1X)
- 1 Saco de pontas de pipeta amarelas
- 1 Saco de microtubos tipo eppendorf
- 1 Seringa
- 5 Pilhas de 9V
- 1 Placa de Petri
- 1 Tina de electroforese
- 1 Pente para a tina
- 1 Tabuleiro para a tina
- 2 Cabos de ligação (preto e vermelho)
- 1 CD (com Manual de Instruções)
- 1 Caixa de reagentes contendo:
 - 1 tubo de células bacterianas
 - 1 tubo Marcador (transparente, 50 µL)
 - 1 tubo DNA plasmídico digerido (verde, 35 µL)
 - 1 tubo DNA plasmídico (transparente, 35 µL)
 - 1 tubo DNA da mãe (cor-de-rosa; 35 µL)
 - 1 tubo DNA pai possível 1 (azul, 35 µL)
 - 1 tubo DNA pai possível 2 (amarelo; 35 µL)
 - 1 tubo DNA filho (verde; 35 µL)
 - 1 tubo corante (30 mg)
 - 1 tubo SDS 10% (em água; 800 µL)
 - 1 tubo tampão de aplicação (50 µL)

Experiência 1:

Parte 1 - Extração de DNA genómico

Introdução:

Nesta experiência os alunos terão possibilidade de visualizar DNA genómico com um grau de pureza substancialmente mais elevado do que aquele que normalmente fazem nas aulas, vulgarmente a partir de extractos de cebola, morango ou kiwi. Além disso, esta experiência não termina com a visualização do DNA. Os alunos poderão, posteriormente, analisar, manipular e visualizar o DNA através de electroforese em gel de agarose, utilizando este kit.

Para esta experiência foi utilizada uma estirpe de bactérias *E. coli*, (obviamente não patogénica), cultivada em meio líquido rico, com agitação moderada a 37 °C. Após 24 horas a cultura foi centrifugada a 10 000 rpm durante 10 minutos. As células recolhidas no fundo do tubo estão incluídas no kit (tubo "células bacterianas"). A extração poderá ser realizada previamente ou durante as aulas com os alunos.

(Nota: a segunda parte desta experiência pode ser também realizada com DNA extraído a partir de qualquer outro material biológico e/ou com métodos de isolamento alternativos, por exemplo o DNA extraído a partir de morango ou kiwi, pelos métodos rudimentares convencionais.)

Material necessário (enviado no kit):

- Tubo com "Células bacterianas" (tubo tipo Falcon de cerca de 20 mL)
- SDS 10% (sodium dodecil sulphate, dodecil sulfato de sódio, em água)
- Tampão TE (Tris-EDTA, Tris-HCl a 10 mM, pH 8,0; EDTA a 1 mM)
- Etanol (EtOH)

Material opcional:

- Placa de Petri (enviada)
- Ponta de pipeta amarela (enviada)
- Tubos de microcentrifuga tipo Eppendorf (enviado)
- Pipeta de Pasteur de vidro (não enviada)

Protocolo experimental:

1 - Ressuspender as células em 2,5 mL de tampão TE

Pipetar cerca de 2,5 mL de tampão TE para dentro do tubo (pode utilizar uma pipeta normal do laboratório ou medir com um copo de vidro pequeno, ou simplesmente verter metade do volume fornecido (~5 mL)), fechar o tubo com a tampa e ressuspender por inversão do tubo na mão várias vezes (alguns minutos) suavemente, até a suspensão ficar homogênea (Não agitar vigorosamente, o que provoca formação de espuma)

2 - Adicionar 300 µL de SDS

Utilizar a seringa e uma ponta amarela. Inverter como no passo anterior e deixar a incubar durante cerca de 20 minutos à temperatura ambiente, com agitação ocasional do tubo.

3 - Adicionar 5 mL de álcool

Adicionar etanol no dobro do volume do tampão TE (2 x 2,5 mL = 5 mL), agitar suavemente invertendo o tubo algumas vezes. Imediatamente se verá o DNA precipitado, de cor branca e aspecto viscoso.

NOTA: No passo de adicionar o etanol convém que todos os alunos prestem atenção, porque o surgimento do DNA precipitado é imediato. Se as células forem frescas, o DNA aparece num novelo. De as células forem velhas (mais de 1 mês) provavelmente o DNA aparece em flocos brancos dispersos.

4 - Retirar o DNA precipitado no tubo

O DNA deverá ser retirado do tubo com um material estéril. Ou com uma ponta de pipeta amarela (fornecida) ou com uma pipeta de Pasteur de vidro com a ponta previamente dobrada em forma de anzol num bico de Bunsen/lamparina (por exemplo).

Alternativamente, o conteúdo do tubo pode ser vertido para dentro da placa de Petri (fornecida) e daí retirado para um tubo de microcentrifuga novo.

5 - Evaporar o etanol ao ar

Já no tubo novo, este deve ser mantido aberto para deixar evaporar o etanol. Quando o DNA estiver seco, ressuspender em cerca de 100-250 µL de tampão TE e agitar suavemente até o DNA ficar totalmente dissolvido no tampão (a solução ficará bastante viscosa, tanto mais viscosa quando maior for a quantidade de DNA extraído).

Esse DNA pode ser recuperado do tubo e utilizado para um variado número de experiências. Aqui, em seguida, é proposta uma delas.

Parte 2 - Proposta de Experiência: "O DNA parte-se?"

Introdução

O objectivo desta experiência é o de sujeitar o DNA a diferentes condições de armazenamento e analisar o seu efeito na integridade da molécula de DNA.

Material necessário:

- DNA extraído no passo anterior
- Tubos tipo eppendorf
- seringa
- pontas amarelas
- tampão de aplicação

Protocolo experimental:

O DNA recolhido no passo anterior deverá ser dividido por vários tubos, cada um distribuído a um grupo de alunos, ficando um dos tubos no laboratório da escola (por exemplo 5 grupos formados, dividindo o DNA extraído por 6 tubos, cada um com 30-50 µL cada um).

Cada grupo deverá levar o seu tubo de DNA para casa sujeitando-o a diferentes condições de armazenamento. Por exemplo:

- Grupo 1:** Armazenar o DNA no frigorífico a 4 °C
- Grupo 2:** Armazenar o DNA no congelador a -20 °C
- Grupo 3:** Abrir o tubo e adicionar-lhe umas gotas de saliva
- Grupo 4:** Submeter o DNA a alguns segundos no microondas
- Grupo 5:** Ferver o DNA durante alguns minutos em banho-maria

Alternativas:

- congelar e descongelar várias vezes;
- macerar um pouco do precipitado de DNA antes de o colocar em suspensão;
- ferver e depois colocar no gelo (versus ferver e não colocar no gelo).

NÃO ESQUECER: Deixar uma amostra de DNA no laboratório, sem submeter a qualquer processo, para utilização como controlo negativo.

Na aula seguinte, os alunos deverão trazer o seu tubo e identificar qual o "mau-tratamento" a que submeteram a amostra.

- 1 - De todas as amostras (aquelas trazidas de casa e o controlo) deve ser retirada uma fracção de cerca de 10µL para um novo tubo e adicionado cerca de 5 µL de **tampão de aplicação** (líquido azul) para dar densidade e permitir a sua visualização, para posterior análise em electroforese em gel de agarose

(Ver Protocolo de: Electroforese em gel de agarose)

Resultados esperados: O DNA genómico, quando analisado em gel de agarose, aparece com um aspecto de "cauda de cometa", sendo a cauda tanto mais comprida e tanto mais baixa quanto maior for o grau de degradação do DNA. Assim, tratamentos mais violentos para o DNA irão desnaturá-lo e/ou fracturar a sua molécula em fragmentos mais pequenos, originando uma cauda que corre mais baixo no gel.

Experiência 3:

CSI: Fraude canina?

Introdução:

Esta experiência pretende ser uma introdução à área do "DNA fingerprinting" e da utilização de marcadores genéticos em ciências forenses, através dos quais é possível identificar/excluir um potencial suspeito.

Aproveitando a popularidade das séries televisivas norte-americanas CSI Miami/SCI NY, etc., podem designar este trabalho como CSI Lisboa, CSI Mogadouro, etc.

Tentando afastar a utilização de casos (hipotéticos) humanos, foi criada a seguinte situação:

O Sr. Alão comprou um cão a um criador de uma raça muito apreciada. Querendo um animal de grande qualidade, sem olhar a custos, pediu ao criador que lhe vendesse o melhor cão da sua exploração.

O criador vendeu-lhe um cão garantindo que o pai era um cão da sua exploração, campeão nacional em exposições.

Imensamente feliz, o Sr. Alão levou para casa um belo cachorro que em breve se desenvolveu num cão adulto nada parecido com o seu pai, sem aquele porte altivo nem características de campeão.

Admitindo a hipótese de ter sido ludibriado, o Sr. Alão voltou à exploração, recolheu amostras de pêlo da mãe, do alegado pai, campeão, mas também de um outro macho adulto daquela raça que partilhava o canil, e que poderia muito bem ser ele o verdadeiro pai, pois não partilhava as características de porte e pujança do afamado cão e tinha fortes semelhanças com o animal adquirido.

Tendo assim amostras de pêlo dos dois putativos pais, da mãe e do filho (o seu próprio cão), o Sr. Alão pediu a um geneticista molecular que corresse uma bateria de testes com marcadores genéticos, que permitissem identificar a paternidade do seu animal.

No laboratório, os técnicos extraíram DNA dos pêlos de cada um dos animais (em extracções totalmente separadas, de modo a evitar

cruzamento das amostras), e amplificaram, pela técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction/Reacção da Polimerase em Cadeia) um fragmento específico de canídeos (e bastante polimórfico) que pode originar dois alelos diferentes (heterozigotia) ou iguais (homozigotia) em cada um dos indivíduos.

Os produtos dessas amplificações estão agora nas vossas mãos para poderem analisar por electroforese em gel de agarose (ver protocolo: Electroforese em gel de agarose) a eventual paternidade dos indivíduos analisados.

Material biológico:

DNA da mãe	(tubo cor-de-rosa)
DNA do pai possível 1	(tubo azul)
DNA do pai possível 2	(tubo amarelo)
DNA do filho	(tubo verde)
Marcador	(tubo transparente)

NOTA: Os DNAs já vêm com tampão de aplicação (azul) pelo que só é necessário aplicar as amostras no gel, a partir dos tubos indicados acima.

Protocolo experimental:

- 1 - preparar uma electroforese em gel de agarose (ver protocolo)
- 2 - aplicar uma amostra (10 µL) de cada um dos materiais biológicos fornecidos (Mãe, pai 1, pai 2, filho) em pistas diferentes e uma amostra de marcador num poço adjacente
- 3 - Separar os fragmentos por electroforese
- 4 - Corar o gel
- 5 - Registrar as bandas.
- 6 - Analisar os resultados

Resultados:

Para facilidade, diremos que tanto a mãe como um dos pais putativos são homozigóticos para este marcador, pelo que só apresentam uma banda. O filho será heterozigótico, apresentando duas bandas. Uma vinda da mãe e outra do pai. Como há certeza sobre a mãe, uma das bandas do filho será automaticamente

identificada. O outro alelo (a outra banda) terá que vir do pai. Falta então identificar qual dos potenciais pais possui um alelo igual ao do filho.

Tendo a mãe dois alelos de 1000 pares de bases (homozigótica), o filho terá obrigatoriamente esse fragmento. O filho terá outro fragmento de 600 pb. Como apenas um dos possíveis pais possui a banda de 600 pb, esse pai é compatível com a paternidade. O outro NÃO pode ser o verdadeiro pai, uma vez que é homozigótico para a banda a 3000 pb, não tendo o filho nenhuma banda desse tamanho.

O professor seleccionará qual das situações deseja contemplar:

Ausência de fraude: o campeão nacional é o pai verdadeiro

Presença de fraude: o campeão nacional não é o pai verdadeiro

Perguntas:

- Dos quatro intervenientes, quais são homozigóticos e quais são heterozigóticos?
- Qual dos dois pais poderá ser excluído?
- Podemos dizer que o outro cão é de certeza absoluta o pai?
- Em relação ao animal que foi excluído, podemos dizer que, de certeza absoluta, não é ele o pai?

As questões acima destinam-se a contemplar a seguinte situação, comum a todos os testes de genotipagem:

Se o filho não tem um perfil compatível com a paternidade, então podemos afirmar, com toda a certeza, que aquele possível pai NÃO PODE ser o verdadeiro pai.

Todavia, se o filho tem um perfil compatível com a paternidade, é apenas essa afirmação que pode ser feita. Ou seja, que "este animal PODE SER pai daquele cão", não sendo possível garantir que o seja, porque qualquer outro cão com aquele perfil compatível poderia ser o verdadeiro pai. Apenas em populações confinadas no espaço (por exemplo peixes num aquário, bovinos numa vacaria, etc.), sem hipóteses de contacto com o exterior e em que tenham sido genotipados TODOS os machos em idade de reprodução, apenas nesse caso se poderia afirmar que aquele pai seria o único pai possível.

Electroforese em gel de agarose

NOTA: O tabuleiro e o pente da tina de electroforese estão cobertos por uma película aderente para protecção do plástico (branca com ou sem letras no caso dos tabuleiros e verde no caso dos pentes). Essa película DEVE SER REMOVIDA antes da utilização destes componentes)

Material necessário:

Para a tina de electroforese:

Tina (com tampa)
Tabuleiro
Pente
Eléctrodos (fio vermelho e fio preto)
5 pilhas de 9 V
Fita cola (não fornecida)

Para as soluções:

Tampão TBE (10x)
Agarose
água (não fornecida. Usar água destilada ou a água mais pura a que tiver acesso)

Para as amostras:

Tampão de aplicação
Seringa
Pontas amarelas
DNA das experiências anteriores (1, 2 e 3)

Preparação da electroforese:

a) Preparação das soluções

O gel de agarose tem que ser preparado em tampão TBE a 0,5 x. O tampão fornecido vem concentrado 10 x, portanto terá que ser diluído 1:20 na água mais pura que tiverem (água destilada, água bidestilada, água Mili-Q, etc.). Se não tiverem acesso a água química e bacteriologicamente pura, pode ser utilizada água da torneira, embora com piores resultados.

Para um gel é necessário cerca de 40-50 mL de tampão. Para cobrir o gel de uma tina é necessário cerca de 100 mL, o que significa que por cada experiência necessitarão no máximo de 150 mL. Mas podem preparar logo uma maior quantidade (por exemplo, 500 mL). Se a água tiver boa qualidade e for estéril, a solução pode manter-se estável durante longos períodos. O tampão enviado está concentrado 10 x. Para uma solução de 0,5 x pode proceder-se à seguinte diluição:

Tampão TBE:

Tampão TBE 10 X	20 mL
<u>Água destilada estéril</u>	<u>380 mL</u>
Volume final	400 mL

Agitar para homogeneizar a solução (por exemplo colocando a solução num frasco com rolha hermética e invertendo o frasco várias vezes).

Após utilização, o tampão deve ser mantido em frasco rolhado à temperatura ambiente. Se, após longos períodos sem utilização, a solução ficar contaminada com fungos ou outros microrganismos, descartar e preparar nova solução.

Agarose

A solução de agarose deve ser preparada em tampão TBE 0,5 x (NOTA: não preparar a agarose no TBE 10X fornecido. Diluir primeiro o tampão como acima descrito)

Para os trabalhos presentes a agarose deve ser preparada sempre na concentração de 1%:

1,0% de agarose (p/v) (1 g de agarose/100 mL de tampão TBE 0,5x)

Preparação da solução de agarose a 0,5%

- Pese 1 g de agarose e dissolva em 200 mL de tampão TBE 0,5X num frasco com rolha hermética.
- Agitar para diluir um pouco.
- Colocar no microondas por períodos curtos (15 segundos de cada vez),
- Agitar novamente

- Repetir a operação (15 s no microondas + agitação até a solução ficar TOTALMENTE transparente.

(NOTA: Se existirem ainda grãos de agarose não dissolvidos, o gel não ficará homogêneo após solidificação, prejudicando a separação dos fragmentos de DNA)

Preparação do corante do gel (Nile Blue):

O corante do gel é fornecido em pó dentro de um tubo identificado como "corante". Para se preparar a solução, todo o conteúdo do tubo (40 mg) deverá ser dissolvido em 200 mL de água (a água mais pura disponível, de preferência estéril) (concentração final: 0,02%, ou seja, 0,02 g/100 mL de água).

A solução deverá ser agitada até todo o corante estar bem dissolvido.

A solução DEVE SER OBRIGATORIAMENTE armazenada no escuro (utilizar um frasco de vidro escuro, envolver o frasco com papel de alumínio e guardar num armário com porta), porque o corante se degrada na presença de luz.

A solução corante é reutilizável. Após corar um gel, a solução deverá ser novamente colocada no frasco e armazenada até nova coloração.

b) Preparação do gel:

- Vedar com fita-cola os dois lados abertos do tabuleiro do gel (azul) que vem dentro da tina.
- Colocar o tabuleiro numa bancada plana (certificar que o tabuleiro fica totalmente horizontal, nivelado, para que o gel não fica mais grosso de um lado e mais fino do outro).
- Verter para o tabuleiro cuidadosamente (devagar e sem deixar formar bolhas) cerca de 40 mL de agarose fundida e arrefecida até cerca de 45-50 °C (quando já conseguir segurar o frasco da agarose nas mãos, sem se queimar).
- Colocar imediatamente o pente cerca de 1 cm de distância do fundo do tabuleiro e completamente paralelo ao fundo do tabuleiro (ver figura 7)*.
- Aguardar cerca de 30 minutos, até o gel estar totalmente solidificado.

- Remover o pente para cima, perpendicularmente, com cuidado para não destruir os poços.
- retire cuidadosamente a fita-cola, mantendo o tabuleiro na horizontal, e coloque o gel com o tabuleiro dentro da tina, com os poços para o lado do eléctrodo preto.
- Verter, cuidadosamente, tampão TBE 0,5x para dentro da tina até cobrir todo o gel de tampão e o nível deste atingir cerca de 1 mm acima do gel. NOTA: todos os poços do gel deverão ficar cheios de tampão

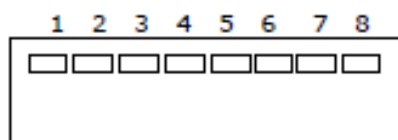
*Os dentes dos pentes devem ficar submersos no gel cerca de 3 mm. Se ao colocar o pente verificar que os dentes ficam de fora ou levemente em contacto com o gel, verta mais alguns mL de gel para dentro do tabuleiro

c) Aplicação das amostras:

NOTA: Antes de aplicar as amostras coloque a tina com o gel no local da bancada onde a electroforese vai decorrer. Após a aplicação das amostras a tina não deverá ser tocada nem movida.

O volume das amostras a aplicar não deve exceder 10 µL por poço, já com o tampão de aplicação (azul) incluído. As amostras devem ser colocadas sequencialmente nos poços e deve ser anotado imediatamente, qual a amostra que foi colocada em cada poço. Os poços devem ser numerados de 1 a 8, num esquema no papel.

Exemplo:



- 1 -
- 2 - Marcador
- 3 - DNA congelado (grupo 1)
- 4 - DNA fervido (grupo 2)
- 5 - DNA armazenado a 4 °C (grupo 3)
- 6 - DNA incubado com saliva (grupo 4)
- 7 - DNA sujeito a microondas (grupo 5)
- 8 -

Se tiver que aplicar 8 amostras, pode utilizar todos os poços. Se possuir apenas até 6 amostras para aplicar, deverá evitar utilizar os poços das extremidades (poços 1 e 8) por serem aqueles em que as amostras migram de forma menos homogênea.

Se tiver um número menor de amostras (por exemplo na experiência dos plasmídeos têm apenas 3 amostras) podem deixar um poço de intervalo entre as amostras, para evitar que uma amostra veta de um poço para o do lado e contamine as amostras dos poços adjacentes.

ATENÇÃO: após a colocação das amostras não deve mover a tina.

d) Condições de electroforese:

Após preparação do gel e colocação das amostras:

- Colocar a tampa na tina
- Ligar os eléctrodos (preto ao pólo negativo das pilhas; vermelho ao pólo positivo)
- Verificar se há passagem de corrente (nos eléctrodos, deverão começar a libertar-se umas pequenas bolhas de gás, mais do lado dos poços que do lado oposto)
- Deixar a electroforese decorrer até à frente azul escura do corante chegar a cerca de 1 cm do final do gel (cerca de 3-8 horas, dependendo da espessura do gel, do estado das baterias e da qualidade da água utilizada)
- Desligar os eléctrodos
- Retirar o gel cuidadosamente e fazê-lo deslizar do tabuleiro da tina para um recipiente adequado, preferencialmente de vidro. Em alternativa utilizar a tampa da tina como recipiente de coloração.

Nota: Durante o decorrer da electroforese, é normal depositarem-se cristais de sal ao longo do eléctrodo, dentro da tina, formando uma mucilagem a envolver o eléctrodo. Esta mucilagem não interfere na separação dos fragmentos e pode ser eliminada no final na electroforese, eliminado o tampão da tina e esfregando o eléctrodo com o dedo ou um esfregão, suavemente, debaixo de água corrente.

e) Coloração do gel

- Colocar o gel num recipiente adequado após electroforese. Preferencialmente, o recipiente deverá ser um tabuleiro de vidro, pouco maior que o gel, mas com uma profundidade que permita cobrir o gel totalmente com o corante.
- Cobrir o gel TOTALMENTE com corante (Nile Blue) preparado como descrito anteriormente (ver, Preparação do corante para gel)
- Deixar a corar (mínimo 60 minutos) com agitação ocasional. **(Os melhores resultados são obtidos com coloração durante a noite. Assim, desejavelmente a electroforese deve ser corrida num dia, o gel deixado a corar durante a noite e visualizado no dia seguinte).**
- Quando se começarem a ver as bandas, pode retirar-se o gel e fazer o registo. Posteriormente pode prosseguir-se a coloração por mais algum tempo.
- Retirar o corante e vertê-lo novamente para o frasco de armazenamento do corante (o corante é reutilizável. Pode corar muitos géis).
- As bandas são melhor visualizadas colocando o gel sobre um papel branco ou, de preferência, sobre uma superfície branca iluminada por baixo.

Figuras



Figura 1: Composição do kit (Imagem adaptada da revista National Geographic (Portugal), Nº Fevereiro 2008):

- 1 - Pilhas (5 x 9 V = 45 V) para funcionar como fonte de alimentação
- 2 - Células bacterianas para extracção de DNA
- 3 - Tampão TBE/Etanol (ver rótulo)
- 4 - Agarose (em pó)
- 5 - CD com informação e protocolos
- 6 - Pontas amarelas para pipeta
- 7 - Placa de Petri (esterilizada por radiação)
- 8 - Tubos tipo Eppendorf
- 9 - Seringa graduada (para usar como pipeta)
- 10 - Caixa com reagentes (corantes, etc.) e material biológico (DNAs, etc.)
- 11 - Cabos de ligação entre a tina e a fonte de alimentação
- 12 - Tina de electroforese
- 13 - Tabuleiro para o gel (com pente ao centro)



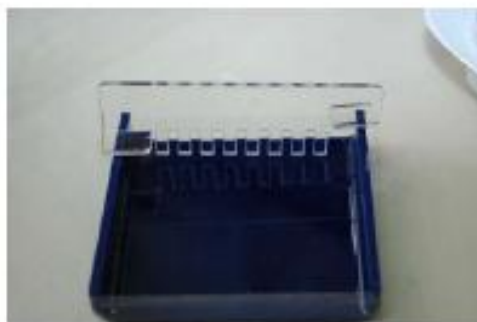


Figura 7: Tabuleiro selado com fita-cola e com o pente colocado na posição correcta



Figura 8: Solução de Agarose (1%) fundida no microondas



Figura 9: Verter a agarose cuidadosamente no tabuleiro (a agarose foi deixada arrefecer até cerca de 45 °C)



Figura 10: Tabuleiro com a agarose e o pente colocado na posição correcta



Figura 11: Retirar o pente do gel após solidificação (com uma das mãos segurar o tabuleiro e com a outra puxar o pente para cima, perpendicularmente ao gel).



Figura 12: Verter o tampão cuidadosamente para a tina



Figura 13: Gel totalmente coberto com tampão TBE-

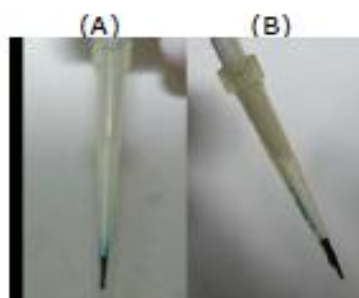


Figura 14: Pipeta com um volume de amostra de 5 μL (A) e 10 μL (B)

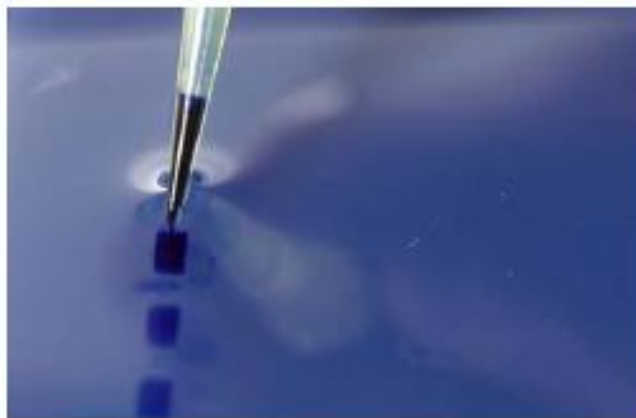


Figura 15: Aplicação da amostra num poço do gel



Figura 16: Sistema de electroforese montado. Electroforese a decorrer

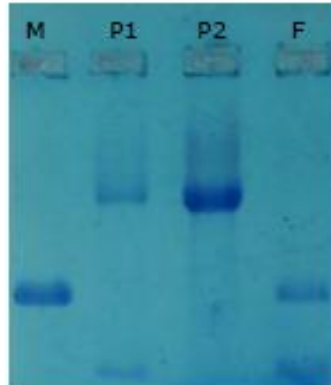


Figura 17: Electroforese a decorrer. Visualização de bolhas de gás a libertarem-se do eléctrodo.



Figura 18: Coloração do gel (aplicação do corante na tampa da tina. Pode ser feita, preferencialmente, num recipiente (tipo tabuleiro) de vidro).

Figura 20: Resultado de uma electroforese da Experiência 3 (Fraude Canina)



Legenda:

M = Mãe;

P1 = Pai possível 1;

P2 = Pai possível 2;

F = Filho

O filho é heterozigótico com dois alelos diferentes (1000 pb e 600 pb). Uma das bases vem da mãe, que é homozigótica (1000 pb), logo o alelo de 600 pares de bases só pode vir do Pai 1, porque o Pai 2 não tem esse alelo.



Figura 21: Aspecto do DNA precipitado (experiência 1)

CRÉDITOS

Este trabalho foi financiado pelo **Programa Ciência Viva6** e teve o apoio das seguintes Instituições e colaboradores, sem os quais não teria sido possível a sua realização.

Ordem dos Biólogos – Doutor Pedro Lourenço

Escola Secundária da Amadora (Amadora) – Profª. Maria dos Prazeres Cardoso Amaral Fragoeiro

Escola Secundária Fernando Lopes Graça (Parede) – Profª Joana Capucho

Escola Secundária Ibn Mucana (Alcabideche) – Profª Ana Maria Queiroz de Macedo

Escola Secundária José Saramago (Mafra) – Prof. Pedro Passos e e Prof. Martinho Rangel

Escola Secundária Padre Alberto Neto (Queluz) – Profª Manuela Moura Lopes

Escola Secundária Stuart de Carvalhais (Massamá) – Profª Ana Moraes, Profª Ângela Neves e Prof. João Carlos Ribeiro

INETI (Inst. Nac. Engenharia, Tecnologia e Inovação, I.P.) – Grupo de Biologia Molecular do Departamento de Biotecnologia

Coordenador: José Matos

Investigadores: Fernanda Simões; Paula Sá Pereira; João Mascarenhas (design)

Técnicos de Investigação: Diogo Mendonça, Carla Borges, Mafalda Possante.

CONTACTOS:

Para dúvidas técnicas:

José Matos

e.mail: jose.matos@ineti.pt; jose.matos@ordembioologos.pt

Telefone: 210 924 735

Para aquisição de novos kits, seus componentes ou reagentes em separado:

Bioprincípio: bioprincipio@gmail.com; Telef: 927 577 997 (Drª Sara Duarte)

Anexo 2



plano tecnológico
educação



competências
TIC

CERTIFICADO DE COMPETÊNCIAS DIGITAIS

Certifica-se que **Alcina Eduarda Ferreira Salgado Lobo**, com o número de Identificação Civil / Militar / Passaporte / Título de Residência **5923947**, obteve a certificação em Competências Digitais no âmbito do Sistema de Formação e de Certificação em Competências TIC para docentes, por **Certificação por reconhecimento de percurso formativo**.

Data: 31/05/2010


(Directora do Centro de Formação de Associação de Escolas)

Certificado n.º 3765/2010

"O certificado de competências digitais certifica os conhecimentos adquiridos pelo docente que lhe permitem uma utilização instrumental das TIC como ferramentas funcionais no seu contexto profissional." (Portaria n.º 731/2009)



Ministério da
Educação





I Curso de Actualização em Biologia

Diploma

Declara-se que Alicia Eduarda Ferreira Salgado Lobo participou no
I Curso de Actualização em Biologia realizada na Escola Secundária
Alexandre Herculano, em 21 de Maio de 1990.
Ponta, 21 de Maio de 1990.

A Comissão Organizadora



Anexo 4

CFBC

**Centro de Formação Bráulio Caldas
Caldas de Vizela**



Certificado

O Centro de Formação Bráulio Caldas, nos termos do art.º 13.º do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores, certifica que a professora do Ensino Secundário, do grupo 26 biologia e Geologia [11º B], **ALCINA EDUARDA FERREIRA SALGADO LOBO**, portadora do Bilhete de Identidade nº 05923947, a exercer funções na Escola Secundária de Caldas de Vizela, frequentou e obteve aproveitamento na acção de formação **CARACTERIZAÇÃO E TRATAMENTO DE ÁGUAS PARA CONSUMO** (), promovida por este Centro de Formação, na modalidade de Projecto.

Mais certifica que a referida acção teve uma duração de 50 horas, decorreu entre 27-09-2000 e 14-03-2001, foi orientada pelo formador **LUIS LEHMANN VELOSO DE ARAÚJO** e, nos termos e para efeitos previstos no art.º 14.º do mesmo Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores, concedeu **4(quatro) créditos** à referida professora.

Caldas de Vizela, 1 de Agosto de 2001

O Director do Centro de Formação

(João Antero Gonçalves Ferreira)

Anexo 5

		<p>Centro de Formação de Francisco de Holanda</p> <h1>Diploma</h1>
<p><i>Jorge do Nascimento Pereira da Silva, director do Centro de Formação de Francisco de Holanda sediado na Escola Secundária de Holanda, Alameda Dr. Alfredo Pimenta, em Guimarães, entidade formadora acreditada pelo Conselho Científico-Pedagógico da Formação Contínua, com o registo de acreditação CCPFC/SENT-AE-0627/04, certifica que ALCINA EDUARDA FERREIRA SALGADO LOBO, residente em Rua Prof. António Marques Dias da Silva, 279, 4810 GUIMARÃES, portadora do Bilhete de Identidade número 5923947 emitido pelo arquivo de identificação de Lisboa, 2004-10-01, participou na acção de formação subordinada ao tema O ENSINO DAS CIÊNCIAS EM LABORATÓRIO - OFICINA DE FORMAÇÃO, organizada na modalidade de Oficina de Formação, com a duração de 25 horas e foi aprovada.</i></p> <p><i>A Acção decorreu entre 2005-02-15 e 2005-05-04, nas instalações da Escola Secundária Francisco de Holanda, sob a orientação da formadora Camila Gabriela Machado de Sousa, a que, nos termos do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores, correspondem a 2.0 (duas) unidades de crédito.</i></p> <p><i>Mais se certifica que a acção foi acreditada pelo Conselho Científico-Pedagógico da Formação Contínua sob o número de registo CCPFC/ACC-34831/04 e que, para os efeitos previstos no artigo 5º, número 2, do Decreto-Lei n.º 207/96 de 2 de Novembro (Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores), releva para efeitos de progressão na carreira de Professores do 3º Ciclo do Ensino Básico e Secundário (Grupo 11.º B).</i></p> <p>Guimarães, 2005-07-21</p>		
<p>070161937</p> <p> O DIRECTOR CENTRO DE FORMAÇÃO DE FRANCISCO DE HOLANDA GUIMARÃES</p> <p> UNIAO EUROPEIA Fundo Social Europeu prodep III Acção co-financiada pelo Fundo Social Europeu e Estado Português Portugal em Acção</p>		

Anexo 6

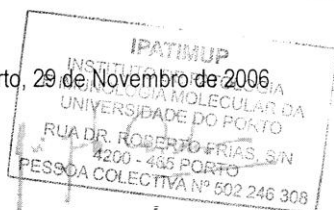


Instituto de Patologia e Imunologia Molecular
da Universidade do Porto

Declaração

Para os devidos efeitos se declara que o(a) Dr.(a) Alana Eduarda
Ferreira Salsgado Lobo esteve
presente no dia 29 de Novembro das 14h30m às 18h30m na 1ª Sessão de Medicina e Cancro,
3º Ciclo de Colóquios – 2006, Auditório da Fundação de Serralves no Porto.

Porto, 29 de Novembro de 2006



Prof. Rui Mota Cardoso

Rua Dr. Roberto Frias, s/n
4200-465 PORTO
Tel.: 351-22 557 07 00

Anexo 7

ICVS - Instituto de Investigação em Ciências da Vida e Saúde
ECS - Escola de Ciências da Vida e Saúde



Universidade do Minho

CERTIFICADO

A Escola de Ciências da Saúde (ECS) /Instituto de Investigação em Ciências da Vida e Saúde (ICVS) certifica que Alcina Lobo da Escola Secundária Francisco de Holanda, participou no Programa “Ensino Experimental das Ciências”(EEC), frequentando um estágio de formação experimental sobre Microbiologia, tendo elaborado o Protocolo Experimental intitulado: “Preparação e observação microscópica de preparações definitivas”.

Este trabalho foi orientado pela Investigadora Fernanda Bajanca do Domínio de Investigação de Desenvolvimento do Instituto de Investigação em Ciências da Vida e Saúde (ICVS).

Universidade do Minho, 30 de Julho de 2009

A responsável do Programa de Colaboração do EEC

Professora Doutora Isabel Palmeirim

A Presidente da ECS

Professora Doutora Cecília Leão

Anexo 8

Certificado

Jorge do Nascimento Pereira da Silva, director do Centro de Formação Francisco de Holanda, entidade formadora acreditada pelo Conselho Científico-Pedagógico da Formação Contínua, com o registo de acreditação CCPFC/ENT-AE-1004/08, certifica que **ALCINA EDUARDA FERREIRA SALGADO LOBO**, nascida a 16-10-1963, portadora do Bilhete de Identidade/Cartão de Cidadão com o número 5923947, residente em Rua Professor António Marques Dias da Silva, Creixomil, 4835-020 Guimarães, participou na acção de formação subordinada ao tema “**Avanços Científicos – Aplicação ao Ensino Laboratorial das Ciências**”, acreditada pelo referido Conselho, com o número de registo CCPFC/ACC-54805/09. A acção foi organizada na modalidade de Oficina, teve a duração de 30 horas presenciais e 30 horas de trabalho autónomo, a que correspondem 2.4 unidades de crédito, nos termos do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores, decorreu nas instalações da Escola Básica 2/3/Sec. Santos Simões, entre 15-09-2009 e 17-11-2009 e foi orientada por Camila Gabriela Machado de Sousa.

Certifica-se, também, que o formando foi **aprovado** com a classificação de **9,6** (Nove vírgula seis), na escala de 1 a 10, a que corresponde a menção qualitativa de **Excelente**, de acordo com o referencial da escala de avaliação previsto no n.º 2 do artigo 46.º do Estatuto da Carreira Docente, aprovado pelo Decreto-Lei n.º 15/2007, de 19 de Janeiro.

Certifica-se, ainda, que a acção, para os efeitos previstos no artigo 5.º do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores (RJFCP), aprovado pelo Decreto-Lei n.º 207/96, de 2 de Novembro, com as alterações introduzidas pelo artigo 4.º do Decreto-Lei n.º 15/2007, de 19 de Janeiro, releva para efeitos de apreciação curricular e para a progressão na carreira docente dos educadores e professores do ensino básico e secundário e que, para efeitos de aplicação do n.º 3 do artigo 14.º do mesmo RJFCP, releva para efeitos de progressão na carreira dos professores do(s) grupo(s) de recrutamento 520.

Pelo que, nos termos do artigo 13.º do Decreto-Lei n.º 207/96, de 2 de Novembro, com as alterações introduzidas pelo artigo 4º do Decreto-Lei 15/2007, de 19 de Janeiro, se emitiu o presente certificado que assino e autentico com o carimbo em uso neste Centro de Formação.

Guimarães, 15 de Dezembro de 2009.



401791

Centro de Formação Francisco de Holanda, Alameda Dr. Alfredo Pimenta, 4814-528 Guimarães
Telefones: 253 513 073 / 253 412 954 / 253 412 967; Fax: 253 519 016 / 253 514 477 - URL: <http://www.cffh.pt> - E-mail: email@cffh.pt
Escola-sede: Escola Secundária Francisco de Holanda

Anexo 9



Certificado de Formação

Declara-se que o(a) Dr.(^a) Alcina Eduarda Ferreira Salgado Lobo

portador(a) do B.I. n.º 5923947 frequentou com aproveitamento o Curso de Formação "*As rochas e as estruturas geológicas: do campo ao laboratório*", com a classificação de **10 valores** (numa escala de 0 a 10 valores). Este curso com a duração de 25 horas, que decorreu no Departamento de Geologia da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, de 09 a 24 de Outubro de 2009, está acreditado pelo Conselho Científico-Pedagógico da Formação Contínua com 1 crédito, correspondendo-lhe o registo CCPFC/ACC-52270/08, conforme o certificado datado de 2 de Junho de 2008.

Para efeitos de aplicação do nº 3 do artigo 14º do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores, o presente curso releva para a progressão na carreira de Professores do Grupo 520.

O curso foi leccionado pelos Formadores: Prof. Doutora Helena Maria Sant'Ovaia Mendes da Silva (registo CCPFC/RFO-01802/97), Prof. Doutora Maria dos Anjos Marques Ribeiro (registo CCPFC/RFO-21808/07), Prof. Doutora Maria Ângela de Carvalho Fernandes Almeida (registo CCPFC/RFO-03254/97).

Porto, 22 de Dezembro de 2009

A Responsável pelo Curso de Formação

Prof. Doutora Maria dos Anjos Marques Ribeiro

O Director da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Prof. Doutor Pedro Ventura Alves da Silva

Anexo 10



Ministério da
Educação



Centro de Formação de Francisco de Holanda

Diploma

Jorge do Nascimento Pereira da Silva, diretor do Centro de Formação de Francisco de Holanda, sediada na Escola Secundária de Francisco de Holanda, Alameda Dr. Alfredo Pimenta, em Guimarães, entidade formadora acreditada pelo Conselho Científico-Pedagógico da Formação Contínua, com o registo de acreditação CCPFC/ENT-4E-1004/08, certifica que **ALCINIA CHULHES DA SILVA**, nascida a 16 de Outubro de 1963, portadora do Bilhete de Identidade número 5923947, residente na Rua Prof. António Marques Dias da Silva, 4835-020 Guimarães, participou na acção de formação subordinada ao tema **ANÁLISE DO DESEMPENHO DOCENTE E SUPERVISÃO PEDAGÓGICA**, acreditada pelo Conselho Científico-Pedagógico da Formação Contínua, sob o número de registo CCPFC/ACC-53656/08, emitido para o Centro de Formação de Francisco de Holanda com o registo de acreditação CCPFC/ENT-4E-0627/04, agora integrado no Centro de Formação de Francisco de Holanda na sequência da reorganização da rede de CFAC, decorrente do despacho 18059/08, de 04 de Julho, organizada na modalidade de Módulo Formação, com a duração de 22,5 h presenciais, a que corresponde 0,9 (nove décimas) de crédito de formação máxima, nos termos do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores. A acção decorreu entre 04-07-2008 e 08-07-2008, nas instalações da Escola Secundária de Francisco de Holanda, sob a orientação da formadora Regina Conceição Alves Parente.

A formanda foi aprovada com **a classificação qualitativa de 9**, na escala de 1 a 10, a que corresponde **a menção qualitativa de Excelente**, de acordo com o referencial da escala de avaliação previsto no nº 2 do artigo 462 do Estatuto da Carreira Docente, aprovado pelo Decreto-Lei nº 15/2007, de 19 de Janeiro, e foi-lhe atribuída a creditação de **0,9 (nove décimas) de crédito**.

Certifica-se que a acção, para os efeitos previstos no artigo 52 do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores (Decreto-Lei nº 207/96 de 2 de Novembro), com as alterações introduzidas pelo artigo 42 do Decreto-Lei 15/2007, de 19 de Janeiro, releva para efeitos de apreciação curricular e para a progressão na carreira de Educadores de Infância e Professores do Ensino Básico e Secundário.

Pelo que se emite este certificado nos termos do artigo 139 do Decreto-Lei nº 207/96, de 2 de Novembro (RJCP), com as alterações introduzidas pelo artigo 42 do Decreto-Lei 15/2007, de 19 de Janeiro.

Guimarães, 25-11-2008



O DIRECTOR
Jorge do Nascimento Pereira da Silva



dgide
Direcção-Geral de Inovação e de Desenvolvimento Curricular



prodep III
Programa Operacional do Ensino e da Aprendizagem



UNIÃO EUROPEIA
Fundo Social Europeu
Acção co-financiada pelo Fundo Social Europeu e Estado Português

J5-T11-1

Anexo 11



Ministério da
Educação



Centro de Formação de Francisco de Holanda

Diploma

Jorge do Nascimento Pereira da Silva, diretor do Centro de Formação de Francisco de Holanda, sediado na Escola Secundária de Francisco de Holanda, flameda Dr. Alfredo Pimenta, em Guimarães, entidade formadora acreditada pelo Conselho Científico-Pedagógico da Formação Contínua, com o registo de acreditação CCPFC/ENT-4E-1004/05, certifica que **ALCINA EDUARDO FERREIRA SILVA DO LOBO**, nascida a 16 de Outubro de 1963, portadora do Bilhete de Identidade número 5925947, residente na Rua Prof. António Marques Dias da Silva, 279, 4535-020 Guimarães, participou na ação de formação subordinada ao tema **AS DIMENSÕES ORGANIZACIONAIS DA ESCOLA E O MODELO DE AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DOCENTE**, acreditada pelo Conselho Científico-Pedagógico da Formação Contínua, sob o número de registo CCPFC/ACC-53357/05, emitido para o Centro de Formação de Francisco de Holanda com o registo de acreditação CCPFC/ENT-4E-0557/07, agora integrado no Centro de Formação de Francisco de Holanda na sequência da reorganização da rede de CF-FC, decorrente do despacho 15039/08, de 04 de julho, organizada na modalidade de Módulo Formação, com a duração de 15 11 presençiais, a que corresponde 0,6 (seis décimas) de crédito de certificação máxima, nos termos do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores, a ação decorreu entre 09-09-2008 e 10-09-2008, nas instalações da Escola Secundária de Francisco de Holanda, sob a orientação flaves Parente.

A formanda foi aprovada com **a classificação qualitativa de 8**, na escala de 1 a 10, a que corresponde **a menção qualitativa de Muito Bom**, de acordo com o referencial da escala de avaliação previsto no nº 2 do artigo 46º do Estatuto da Carreira Docente, aprovado pelo Decreto-Lei nº 15/2007, de 19 de janeiro, e foi-lhe atribuída a certificação de **0,6 (seis décimas) de crédito**.

Certifica-se que a ação, para os efeitos previstos no artigo 5º do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores (Decreto-Lei nº 207/96 de 2 de Novembro), com as alterações introduzidas pelo artigo 4º do Decreto-Lei 15/2007, de 19 de janeiro, releva para efeitos de aproveitamento curricular e para a progressão na carreira de Educadores de Infância e Professores do Ensino Básico e Secundário.

Pelo que se emite este certificado nos termos do artigo 13º do Decreto-Lei nº 207/96, de 2 de Novembro (RJFCP), com as alterações introduzidas pelo artigo 4º do Decreto-Lei 15/2007, de 19 de janeiro.

Guimarães, 28-11-2008



O DIRECTOR
Jorge do Nascimento Pereira da Silva



Anexo 12



MINISTÉRIO
DA EDUCAÇÃO
E CIÊNCIA



GABINETE
DE AVALIAÇÃO
EDUCACIONAL

CERTIFICADO

O Gabinete de Avaliação Educacional certifica que **Alcina Eduarda Ferreira Salgado Lobo** concluiu com aproveitamento a seguinte ação de formação:

Designação: “Fiabilidade na classificação de respostas a itens de construção no contexto da avaliação externa das aprendizagens”

N.º de registo de acreditação: CCPFC/ACC-65334/11

Modalidade: Oficina de Formação

Domínio: Biologia e Geologia

Destinatários: Docentes dos Grupos de Recrutamento 200, 210, 220, 230, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 400, 420, 430, 500, 510, 520 e 600

Duração: 45 horas (15 horas presenciais e 30 horas não presenciais)

Período de realização: de março a setembro de 2011

Local de formação: Escola Básica e Secundária Santos Simões, Guimarães

Formador(es): Maria Fernanda Raposo Silva Azevedo

Créditos atribuídos: 1,2


Avaliação qualitativa: Excelente

Avaliação quantitativa: 9,4 valores

Lisboa, 27 de novembro de 2011

O Diretor

Anexo 13

	ESCOLA SECUNDÁRIA FRANCISCO DE HOLANDA	Ano lectivo 2010/2011
	GRUPO DE PROJECTOS DE DESENVOLVIMENTO EDUCATIVO	

1. DESIGNAÇÃO DO PROJECTO

XVI Olimpíadas do Ambiente – “Ambiente à Prova”

2. RAZÕES JUSTIFICATIVAS DA PROJECTO:

Incentivar os alunos para as problemáticas ambientais.
Avaliar conhecimentos

3. DESTINATÁRIOS DO PROJECTO

- 3.1. Turmas: Ciências e Tecnologias
- 3.2. Anos lectivos: 10º, 11º e 12º anos
- 3.3. Nº de alunos previstos: 150

4. OBJECTIVOS:

Incentivar o interesse pela temática ambiental.
Aprofundar o conhecimento sobre a situação ambiental portuguesa e mundial.
Estimular a capacidade oral e escrita.
Promover o contacto com situações experimentais concretas.
Desenvolver o espírito e curiosidade científica.
Estimular a dinâmica de grupo e espírito de equipa, assim como a cooperação

5. CONTEÚDO/DESCRIÇÃO

A Água é o tema central da modalidade “Ambiente à Prova”, focando as ameaças globais, conservação da natureza, estilos de vida, política ambiental, poluição, realidade nacional e recursos naturais.

6. RECURSOS:

Computador com acesso à internet, impressora e papel.

7. METODOLOGIAS PEDAGÓGICAS/DIDÁCTICAS DE REALIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO

A modalidade “Ambiente à Prova” consiste em três eliminatórias disputadas uma a nível local, outra a nível distrital e uma Final Nacional.
O concurso foi divulgado por intermédio dos professores de Biologia e Geologia, aos seus alunos. Os alunos foram motivados para consultarem o site das XVI Olimpíadas do Ambiente <http://www.esb.ucp.pt/olimpiadas/> para se inteirarem dos objectivos do concurso, regulamento, calendarização e temas. Para participarem no concurso inscreveram-se 85 alunos do ensino secundário, curso de Ciências e Tecnologias, que concorreram na categoria sénior. A lista de alunos inscritos apresenta-se no doc. 1, em anexo.
A 1ª eliminatória decorreu no dia 16 de Dezembro de 2010 das 14,30h às 15,15h. Para a realização da prova foi feita a planificação que se resume no quadro seguinte.

As provas foram corrigidas pela professora coordenadora (parte I) e as questões de desenvolvimento (parte II) das 25 provas melhor classificadas foram enviadas para o secretariado das XVI Olimpíadas do Ambiente.

As 25 melhores classificações apresentam-se no doc.2, em anexo.

Sala	Turmas	Nº de alunos	Professoras Vigilantes
3P4	10CT1	11	Professora Fernanda Sousa
	10CT2	1	
	10CT3	3	
	10CT6	7	
	10CT7	7	
	Total: 29		
3P5	11CT1	8	Professora Alcina Lobo
	11 CT2	4	
	11CT3	2	
	11 CT4	11	
	12CT1	2	
	12CT4	2	
	Total: 29		
3P6	11 CT5	10	Professoras Cecília Dias
	11CT6	17	
	Total: 27		

A coordenadora do projecto, como era sua obrigação, cumpriu todos os formalismos impostos pela organização das XVI Olimpíadas do Ambiente.

Os professores de Biologia e Geologia dos alunos participantes foram sempre informados da calendarização das provas e dos resultados dos seus alunos, tendo sido elementos imprescindíveis durante o projecto.

Os Directores de Turma dos alunos participantes foram devidamente informados, assim como a Direcção da Escola que disponibilizou os meios necessários para que o projecto fosse exequível.

8. METODOLOGIA DE AVALIAÇÃO DOS ALUNOS:

A 1ª Eliminatória consiste num teste escrito individual constituído por 30 questões de escolha múltipla (Parte I) e por uma pergunta de desenvolvimento (Parte II).

A 2ª Eliminatória inclui um teste escrito com 30 questões de escolha múltipla e duas perguntas de desenvolvimento, que se baseiam em propostas de resolução de problemas ambientais concretos.

A Final Nacional é constituída por uma prova escrita individual com 50 questões de escolha múltipla e por uma prova oral em grupo. Os grupos e temas da prova oral serão divulgados uma semana antes da Final Nacional. A classificação de cada uma destas provas tem um peso de 50% na nota final. A Final Nacional, além das provas, incluirá actividades relacionadas com o tema central do projecto.

9. METODOLOGIA DE AVALIAÇÃO DO PROJECTO:

A cargo da organização das XVI Olimpíadas do Ambiente.

10. TEMPOS E CRONOGRAMA DE DESENVOLVIMENTO

	Out	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai
Prazo de inscrição nas modalidades		6					
Envio do enunciado dos testes da 1ª eliminatória		13					
Realização da 1ª eliminatória		16					
Recepção dos testes da 1ª eliminatória			17				
Publicação da lista de apurados para a 2ª eliminatória				7			
Envio do enunciado dos testes da 2ª eliminatória via e-mail				17			
Realização da 2ª eliminatória nas escolas				22			
Recepção dos testes da 2ª eliminatória				25			
Publicação da lista dos finalistas - AP						4	
Final Nacional - Faro						28	a 1

11. NÚMERO E DATA DA ACTA DO DEPARTAMENTO RESPECTIVO EM QUE A BONIFICAÇÃO DE NOTA É APROVADA (SE FOR O CASO)

12. BONIFICAÇÃO DE NOTA NA (S) SEGUINTE DISCIPLINA (S)

13. PROFESSORES ENVOLVIDOS:

Professores do subdepartamento de Biologia e Geologia que motivaram os alunos a participar nas Olimpíadas do Ambiente. Professoras Fernanda Lopes e Cecília Dias que colaboraram na aplicação dos testes da 1ª eliminatória e às quais foi entregue diploma devido.

14. PROFESSOR COORDENADOR DO PROJECTO

Alcina Eduarda Ferreira Salgado Lobo

Data: 03/01/2011

Assinatura do coordenador do projecto: _____

	GRUPO DE PROJECTOS DE DESENVOLVIMENTO EDUCATIVO	
--	---	--

1. DESIGNAÇÃO DO PROJECTO

XVI Olimpíadas do Ambiente – “Ambiente à Prova”

Relatório das actividades do 2º Período

2. METODOLOGIAS PEDAGÓGICAS/DIDÁCTICAS DE REALIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO

Para a segunda eliminatória, na categoria sénior, da modalidade “Ambiente à Prova” foram seleccionados quatro alunos da Escola através do critério:

- “200 melhores classificados a nível nacional”
- ❖ “3 melhores pontuações por escola”

A resposta à pergunta de desenvolvimento (Parte II) foi levada em consideração, no caso de empate no critério “3 melhores pontuações por escola”.

Ano	Turma	Nome	Nota
10	CT2	Ana Cláudia Costa	24●
11	CT6	Alexandre Filipe Almeida	21❖
11	CT5	Ana Jacinta Abreu	21❖
10	CT3	Daniel Jorge Salazar	21❖

A 2ª eliminatória decorreu no dia 22 de Fevereiro de 2011 das 14,30h às 15,15h.

As provas foram enviadas para o secretariado das XVI Olimpíadas do Ambiente para serem corrigidas.

Os Directores de Turma dos alunos participantes foram devidamente informados, assim como a Direcção da Escola que disponibilizou os meios necessários para que o projecto fosse exequível.

No dia 5 de Abril foi publicada a lista de resultados da 2ª eliminatória – Categoria Sénior.

A aluna Ana Jacinta Abreu foi seleccionada, pelo critério “representante de distrito/ grupo de ilhas”, para a Final Nacional.

A Final Nacional decorrerá em Faro entre os dias 29 de Abril e 1 de Maio de 2011.

Ano	Turma	Nome	Nota
11	CT5	Ana Jacinta Abreu	36,5
10	CT3	Daniel Jorge Salazar	33,5
11	CT6	Alexandre Filipe Almeida	31
10	CT3	Ana Cláudia Costa	28,5

3. PROFESSOR COORDENADOR DO PROJECTO

A coordenadora do projecto, como era sua obrigação, cumpriu todos os formalismos impostos pela organização das XVI Olimpíadas do Ambiente.

Alcina Eduarda Ferreira Salgado Lobo
13 de Abril de 2011

1. DESIGNAÇÃO DO PROJECTO

XVI Olimpíadas do Ambiente – “Ambiente à Prova”

Relatório das actividades do 3º Período

2. METODOLOGIAS PEDAGÓGICAS/DIDÁCTICAS DE REALIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO

A aluna Ana Jacinta Abreu foi seleccionada, pelo critério "representante de distrito/ grupo de ilhas", para a Final Nacional.

A Final Nacional decorreu em Faro entre os dias 29 de Abril e 1 de Maio de 2011, depois de ultrapassadas as duas eliminatórias, que aconteceram em Dezembro e Fevereiro.

Este projecto contou, na presente edição, com a participação de 32000 alunos do 7º ao 12º ano, tendo 46 participado na Final Nacional.

A participação da aluna ficou documentada num excelente artigo, publicado no jornal da escola “Encontro”.

A aluna Ana Jacinta foi, pelo segundo ano consecutivo na Final Nacional das Olimpíadas do Ambiente, uma excelente embaixadora da Escola em tão importante evento.

Por esta razão proponho a atribuição pela Escola, da distinção de mérito à aluna Ana Jacinta Abreu que no próximo ano lectivo será aluna do 12º ano.

3. PROFESSOR COORDENADOR DO PROJECTO

A coordenadora do projecto, como era sua obrigação, cumpriu todos os formalismos impostos pela organização das XVI Olimpíadas do Ambiente.

Alcina Eduarda Ferreira Salgado Lobo
22 de Junho de 2011

Anexo 14

Escola Secundária Francisco de Holanda

Relatório de actividade

ACTIVIDADE: Estudo de caso – Roteiro Geológico da Cidade de Guimarães

Data: 19 e 20 períodos 2010/2011

Local: Cidade de Guimarães

Intervenientes discentes: Todos os alunos das turmas 11CT1, 11CT2, 11CT3, 11CT4, 11CT5 e 11CT6

Intervenientes docentes: Aldina Lobo, Cecília Dias e Lina Fonseca

DESCRIÇÃO DA ACTIVIDADE

Área de estudo: Geologia

Tema: A pedra natural aplicada no património construído: factores de alteração e de deterioração.

Conteúdos de estudo/situação problema: Qual a influência dos poluentes atmosféricos na meteorização da pedra natural aplicada nos edifícios?

Introdução:

Na construção civil empregam-se diferentes tipos de rochas, sendo o granito a que predomina nas construções antigas da cidade.

A observação macroscópica das pedras ornamentais mostra alterações provocadas pelos agentes da dinâmica externa.

Pretende-se com este trabalho que elabores um roteiro em formato digital sobre a aplicação das rochas na construção dos edifícios e pavimentos.

Objectivos:

- Observar os edifícios construídos em pedra natural, representativos do património da cidade de Guimarães.
- Conhecer as rochas ornamentais utilizadas na cidade de Guimarães.
- Classificar as rochas encontradas de acordo com a sua génese.
- Fazer a contextualização histórica da construção dos edifícios no sentido de se compreender há quanto tempo as pedras utilizadas estão expostas às agressões antrópicas e naturais.
- Identificar os factores antrópicos / ambientais de alteração das rochas.
- Caracterizar macroscopicamente o tipo de meteorização encontrada/ identificada: placas, filmes, crostas negras, fissuração, colonização biológica, etc.
- Usar múltiplas fontes de evidência bibliográfica e webliográfica.
- Elaborar um roteiro/percurso orientado, pelos edifícios representativos do património construído em pedra natural.
- Consciencialização das entidades responsáveis pela manutenção dos edifícios e da sociedade em geral para um maior cuidado na preservação do património histórico/geológico.

No roteiro, devem constar para cada paragem:

- a localização

- a descrição geológica do edifício/local no que se refere à textura e mineralogia das rochas utilizadas;
- caracterização do tipo de alteração das rochas.

Instrumentos de recolha:

- Visitas de estudo
 - Recolha de dados (sobre a meteorização) ao efectuar o roteiro;
 - Registo fotográfico;
 - Determinação de parâmetros físicos e químicos responsáveis pela meteorização da pedra;
- Pesquisa bibliográfica
- Entrevistas:
 - Técnicos de urbanismo da Câmara Municipal de Guimarães
 - Gabinete de gestão do património urbanístico
 - Geólogos pertencentes à escola/Universidade
 - Responsáveis pelas entidades que usam os edifícios, no sentido de conhecermos a história dos edifícios.

Tratamento de dados:

- Trabalho de grupo (alunos)
 - Análise dos dados recolhidos
 - Sistematização desses dados
 - Elaboração de um poster/Filme com os dados mais relevantes sobre a utilização da pedra natural na construção de edifícios da cidade e das suas alterações mais comuns.

AVALIAÇÃO

Participação dos alunos na visita guiada pelas professoras da disciplina num percurso pré-definido com o objectivo de fazer o reconhecimento das rochas existentes na construção da cidade.

Alguns locais a visitar:

- 1- Escola
- 2- Rua Psão Galvão
- 3- Largo do Toural
- 4- Rua da Tulha
- 5- Rua da Rainha
- 6- Largo da Oliveira
- 7- Convento de Santa Clara (Câmara)
- 8- Largo da Mumadona

Apresentação do trabalho de turma. Cada turma apresentou apenas um trabalho de grupo que foi o resultado da compilação e tratamento dos trabalhos de pequenos grupos. Esta tarefa revelou-se complexa em termos metodológicos e cognitivos, porque exigiu um trabalho de pesquisa sobre conteúdos que seriam leccionados apenas no terceiro período. Surgiram trabalhos interessantes que revelaram grande empenho dos alunos.